COMMONWEALTH BUREAU OF HELMINTHOLOGY.
THE WHITE HOUSE,
103, ST. PETER'S STREET,
ST. ALBANS, HERTS.

RIVISTA
DI
PARASSITOLOGIA

FONDATA DA A. MISSIROLI

CON LA COLLABORAZIONE DI

A. ALESSANDRINI
K. R. S. ASCHER
S. BETTINI
E. BIOCCA
B. BORGHI
G. CARONIA
A. CARTA
V. CILLI
A. CORRADETTI
G. COTRONEI
E. CUBONI
G. D'ALESSANDRO
U. D'ANCONA
A. FILIPPONI
A. GHIGI
A. GOIDANICH
G. GRAMICCIA
G. GRANDI
G. IZAR
I. IACONO
C. JUCCI
L. LA FACE
E. LAGRANGE
Z. H. LEVINSON
G. MAZZETTI
A. PALOMBI
D. PELLEGRINI
V. PUNTONI
C. RAGAZZI
G. SACCA'
G. SANGIORGI
E. ZAVATTARI

DIRETTORE: E. MOSNA

REDATTORI: M. RICCI - L. RIVOSECCHI

PUBBLICAZIONE TRIMESTRALE

REDAZIONE E AMMINISTRAZIONE

ROMA - VIA ARNO, 5 - ROMA

TABLEAU 1

	Date d'infestation	trouvées positives le	soit après	mortes le	soit après	douves mûres	foie lésé
1	8/8/60	7/11	91 j	24/11 S	108 j	1	—
2	11/10	16/11	36	29/11	49	1	—
3	16/11						
	25/11	20/12	35	21/12	36	6+1	+
4	16/11						
	25/11	20/12	35	28/12	43	2+1	+
5	4/11						
	25/11	20/12	46	27/12	53	2	+
6	25/11	5/1	41	25/3	120	1	×
7	25/11	28/12	33	20/3	150	2	×
8	5/1	8/2	34	20/3	69	2	×
9	5/1	8/2	34	22/2	48	5	—
10	18/1	21/2	34	11/3	53	1	—

S = sacrifiée en bon état de santé apparente.
\+ = Lésion mécaniques.
× = Lésion toxiques (décoloration).
— = pas de lésions.

ERRATA CORRIGE

Vol. XXI, n. 1, pag. 36, riga 22:
invece di di 234 casi *leggere* di 288 casi

Vol. XXI, n. 1, pag. 37, riga 30:
invece di cases are 234 *leggere* cases are 288

Vol. XXI, n. 3, pag. 248, riga 27:
invece di la maggior parte dei quali *leggere* che in parte sono stati

ERRATA CORRIGE

Vol. XXI, n. 1, pag. 36, riga 22:
invece di di 234 casi — *leggere* di 288 casi

Vol. XXI, n. 1, pag. 37, riga 30:
invece di cases are 234 — *leggere* cases are 288

Vol. XXI, n. 3, pag. 248, riga 27:
invece di la maggior parte dei quali — *leggere* che in parte sono stati

RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. XXII - N. 1 - Marzo 1961

IL PARASSITISMO INTESTINALE NELLA POPOLAZIONE INFANTILE DI UN' "AREA DEPRESSA"

MARCELLO RICCI (*)

Il parassitismo intestinale risulta di diffusione pressoché generalizzata in tutti e cinque i Comuni della zona; estremamente frequente è anche il poliparassitismo. Il numero delle specie di cui è stata accertata la presenza ammonta a 13.

Sono riferiti partitamente i risultati relativi all'esame con il nastro di cellofan adesivo, e quelli avuti dall'esame delle feci. Viene studiata la diffusione e distribuzione del parassitismo intestinale in generale e delle singole specie nei confronti di ciascuna località ed in relazione al sesso ed all'età dei soggetti.

INTRODUZIONE

La zona cui si riferiscono le presenti ricerche fu prescelta nel 1954 dall'Istituto Nazionale della Nutrizione come « area di dimostrazione » per una serie di indagini sui consumi alimentari famigliari e sui riflessi di tali consumi sullo stato della nutrizione. Tale zona, riconosciuta come una tipica « area depressa », è situata nella parte più meridionale della Provincia di Salerno e comprende i seguenti cinque Comuni: Alfano, 250 m s.l.m., abitanti 1250 (**); Laurito, 475 m s.l.m., ab. 1485; Montano Antilia, 700 m s.l.m., ab. 2979; Rofrano, 450 m s.l.m., ab. 3437; Sanza, 650 m s.l.m., ab. 3506.

In aggiunta alle molte ricerche esperite, come illustrato in altra nota (1), si rese ad un certo punto palese l'opportunità di svolgere anche una inchiesta sul parassitismo intestinale. La sua esecuzione fu affidata allo scrivente, e la presente nota illustra i risultati ottenuti (***).

RICERCHE PRELIMINARI CON IL NASTRO DI CELLOFAN ADESIVO

Un primo sondaggio orientativo circa le condizioni parassitologiche dell'intera zona in studio fu operato nei mesi di luglio e agosto 1958 esami-

---

(*) *Istituto Superiore di Sanità, Laboratori di parassitologia, Roma.*

(**) I dati, ripresi dall'*Annuario Generale* del T.C.I., sono quelli del censimento 1951 aggiornati al 31-12-1957.

(***) Parte dei dati qui riferiti hanno fatto oggetto di comunicazione al 1° Congresso Nazionale della Società Italiana di Parassitologia, Sassari 22-26 settembre 1959, e sono stati pubblicati negli Atti del Congresso stesso (2).

nando, con la metodica del nastro di cellofan adesivo secondo Graham, una campionatura di tutti e cinque i paesi rappresentata da 361 bambini, tra i 6 ed i 12 anni, affluiti in due turni alla colonia estiva (Soggiorno-Vacanza dell'A.A.I.) organizzata a Cava dei Tirreni, appunto per i bambini dell'« area di dimostrazione », a cura dell'Istituto Nazionale della Nutrizione.

In particolare furono esaminati 188 maschi di Alfano, di Laurito e di di Rofrano (1° turno, luglio), e 173 femmine di Montano Antilia e Sanza (2° turno, agosto); l'esame fu effettuato subito dopo l'arrivo dei bambini alla colonia. I dati relativi alla ripartizione per età dei soggetti, per ogni località e totali, nonché gli indici percentuali di incidenza dell'ossiuriasi, globali e dei soli soggetti di 7-9 anni — unica classe di età ben rappresentata di tutti i paesi, ed attraverso la quale è quindi possibile stabilire un confronto tra essi —, per ogni singola località e globali sono riportati in Tabella 1.

Tabella 1

Distribuzione per località, sesso ed età dei soggetti esaminati nelle ricerche preliminari con il nastro di cellofan adesivo, e diffusione dell'ossiuriasi.

località	sesso	anni							Totale	diffusione della ossiuriasi %	
		6	7	8	9	10	11	12		Totale	7-9 anni
Alfano . .	maschi	10	10	12	8	—	—	—	40	45,00	40,00
Laurito .	»	8	15	19	6	4	1	—	53	54,72	50,00
Rofrano .	»	6	34	29	19	6	1	—	95	52,63	52,44
totale .	»	24	59	60	33	10	2	—	188	51,60	49,34
Montano .	femmine	7	10	11	10	12	4	4	58	41,38	51,61
Sanza . .	»	10	20	22	13	23	16	11	115	41,74	54,55
totale .	»	17	30	33	23	35	20	15	173	41,62	53,49
	Totale . .	41	89	93	56	45	22	15	361	46,81	51,05

Da essa emerge che la popolazione infantile della zona in esame presentava un grado di diffusione della ossiuriasi abbastanza elevato, ma non certo eccezionale in considerazione delle assai precarie condizioni dell'igiene generale. Un certo grado di differenza si osservava percentualmente tra il complesso dei maschi e quello delle femmine, ma tale differenza non giungeva al limite della significatività statistica ($t = 1{,}900$, da cui per $n > 30$ si ha P tra 0,1 e 0,05); le diverse provenienze dei soggetti dei due sessi come località, e la differente composizione per età dei campioni in esame non avrebbero in ogni caso consentito di trarre fondate illazioni. I dati relativi alla classe di 7-9 anni erano in effetti probativi, ad esempio, in merito al secondo punto: in base ad essi infatti la diffu-

sione dell'ossiuriasi, indipendentemente dal sesso, appariva pressoché identica in tutti i paesi, salvo che per Alfano in cui il grado percentuale di infestazione risultava minore; anche questa località non era comunque statisticamente differenziabile dalle altre.

In aggiunta ai dati sull'ossiuriasi, grazie alle molto scadenti condizioni dell'igiene intima della quasi totalità dei soggetti in esame, si poterono ricavare dalla stessa ricerca anche dati su altri elminti, tra cui particolarmente interessanti quelli sulla presumibile diffusione di *Ascaris lumbricoides* e *Trichuris trichiura*. Occorse infatti con grande frequenza di raccogliere con il nastro di cellofan adesivo frammenti fecali rimasti aderenti alle pliche perianali dei soggetti, e di poter quindi repertare uova di elminti come ad un esame diretto delle feci.

Si poterono in tal modo identificare 160 casi di parassitismo, pari ad una percentuale del 44,32% sul totale dei soggetti esaminati, sostenute in 86 casi da *A.lumbricoides*, in 26 da *T.trichiura*, in 47 da ambedue questi parassiti, ed in 1 da *Taeniarhynchus saginatus*. Nei confronti dei diversi paesi tali infestazioni incisero percentualmente sulla popolazione esaminata nella seguente misura: Alfano 67,50%, Laurito 43,40%, Montano Antilia 34,48%, Rofrano 47,37%, Sanza 39,13%. Poiché, come ovvio, non tutti i prelievi con il nastro di cellofan adesivo presentavano frammenti fecali, fu possibile trarre dalle citate osservazioni la facile convinzione che in tutte le località in esame dovessero essere presenti in elevatissima misura sia *A.lumbricoides* che *T.trichiura;* il numero in genere assai cospicuo di uova presenti nei frammenti fecali indusse inoltre a pensare che le infestazioni dei due parassiti dovessero molto spesso essere piuttosto intense.

RICERCHE SVOLTE NELL'« AREA DI DIMOSTRAZIONE »

MATERIALI E METODI

L'indagine ha interessato le intere popolazioni delle scuole elementari di Alfano, di Laurito e di Rofrano, ed una campionatura di Montano Antilia e di Sanza. Per le prime tre località le ricerche sono state svolte in sito, fra l'ottobre 1958 e l'aprile 1960; in particolare, i dati di Rofrano sono stati raccolti nell'ottobre-novembre 1958, quelli di Alfano nel febbraio 1960 e quelli di Laurito nell'aprile 1960. Per Montano Antilia e Sanza i dati sono stati ripresi a Cava dei Tirreni, nel luglio 1960, utilizzando quale campioni i soggetti partecipanti al Soggiorno-Vacanza dell'A.A.I.; poiché questi campioni comprendono solo maschi tra i 6 ed i 10 anni, le risultanze del suo studio saranno esposte separatamente da quelle relative ad Alfano, Laurito e Rofrano.

Sono stati complessivamente sottoposti all'indagine con il nastro di cellofan adesivo 802 soggetti, di cui 486 maschi e 316 femmine. L'esame

delle feci è stato praticato a 735 soggetti, di cui 446 maschi e 289 femmine.

Come di consueto nelle similari ricerche condotte dallo scrivente, i risultati riportati sono quelli ottenuti in base ad un unico prelievo con il nastro di cellofan adesivo secondo la metodica di Graham, e ad un unico, quanto più contemporaneo possibile, esame parassitologico delle feci comprendente: *a*) esame diretto in soluzione fisiologica ed in Lugol (salvo controllo con altre metodiche estemporanee, Kuhn e Bidegaray, o preparazioni permanenti all'Heidenhaim); *b*) arricchimento per le uova di elminti per flottazione mediante soluzione cloruro-sodica satura.

1. *ALFANO, LAURITO, ROFRANO*

Diffusione e distribuzione dell'ossiuriasi

La composizione della popolazione esaminata, per località, per sesso e per età è indicata nella Tabella 2 (*). Nelle Tabelle 3 e 4 sono raccolti i dati relativi alla diffusione percentuale dell'ossiuriasi: nella

Tabella 2

Distribuzione per località, sesso ed età dei soggetti esaminati con il nastro di cellofan adesivo

anni		6	7	8	9	10	11	12	6-12	Totale
Alfano	maschi	10	11	11	11	13	8	13	77	144
	femmine	8	13	8	16	12	6	4	67	
Laurito	maschi	9	12	19	24	11	10	9	94	176
	femmine	10	12	11	15	19	8	7	82	
Rofrano	maschi	31	23	29	35	30	19	20	187	354
	femmine	35	27	22	21	29	18	15	167	
Popolazione totale	maschi	50	46	59	70	54	37	42	358	674
	femmine	53	52	41	52	60	32	26	316	
	totale	103	98	100	122	114	69	68	674	

prima sono riportati i dati per ciascun anno di età, per sesso e totali, del complesso della popolazione esaminata; nella seconda sono riferiti i dati per le singole località, con raggruppamento dei soggetti in classi di età; per queste sono state prescelte, soprattutto ai fini di una possibile comparazione, le stesse classi di tre anni usate in altri consimili lavori

(*) La composizione della popolazione di Rofrano, e così, in seguito, i dati parassitologici per classi di età, si presentano un po' differenti da quelli riportati in precedenti lavori relativi alla stessa località (1,2). Ciò si deve al fatto che qui l'età dei soggetti, come negli altri similari studi dello scrivente, è stata calcolata in base al millesimo di nascita.

TABELLA 3

Diffusione percentuale dell'ossiuriasi, in ciascun anno di età e per sesso, nella popolazione totale.

anni	6	7	8	9	10	11	12
maschi	38,00	56,52	54,24	51,43	61,11	56,76	61,90
femmine . . .	50,94	57,69	48,78	46,15	58,33	53,13	57,69
totale . . .	44,66	57,14	52,00	49,18	59,65	55,07	60,29

TABELLA 4

Diffusione percentuale dell'ossiuriasi, per sesso e per classi di età di 3 anni, in ciascuna località e nella popolazione totale.

anni		6	7/9	10/12	6/12
Alfano	maschi	20,00	45,45	70,59	53,25
	femmine	50,00	37,84	59,09	46,76
	totale	33,33	41,43	63,64	50,69
Laurito	maschi	55,56	70,91	73,33	70,21
	femmine	60,00	65,79	61,76	63,41
	totale	57,89	68,82	67,19	67,05
Rofrano	maschi	37,81	45,98	49,28	45,99
	femmine	48,57	50,00	51,61	50,30
	totale	43,94	47,77	50,38	48,02
Popolazione totale	maschi	38,00	53,71	60,15	53,91
	femmine	50,94	51,03	56,78	53,16
	totale	44,66	52,50	58,57	53,56

dello scrivente; è per questa ragione che i soggetti di 6 anni, soli rappresentati nella presente ricerca della classe 4-6 anni, appaiono isolati.

I dati della Tabella 3 consentono alcune osservazioni ma poche conclusioni. Nei totali di ciascun anno si osserva il minimo valore percentuale di diffusione a livello dei 6 anni ed il massimo a 12 anni, ma i valori degli altri anni si distribuiscono tra questi due senza alcuna regolarità. Un identico andamento si riscontra, nei dati per sesso, per i maschi; per le femmine si rileva invece che il minimo valore percentuale si ha non a 6 ma a 9 anni. Eccetto che per i valori di 6 anni, in cui il valore stesso è maggiore per le femmine, e per 7 anni, in cui sono identici, si nota una rimarchevole concordanza tra i due sessi negli aumenti e diminuzioni della percentuale di infestazione per ogni anno di età. La discordanza tra le

percentuali per sesso e totali di ogni anno di età a livello di ogni singola località è ovviamente, anche in dipendenza del piccolo numero di soggetti presenti nella maggior parte dei gruppi, nonché della spesso sensibilmente diversa consistenza degli stessi, ancora maggiore; è stato perciò considerato praticamente inutile riportare i relativi dati analitici.

Elementi di maggiore interesse emergono dall'esame dei dati riportati in Tabella 4:

1) Si rileva anzitutto che la popolazione in esame è nel suo complesso caratterizzata da un grado abbastanza elevato di diffusione della ossiuriasi, anche se non raggiunge le punte verificate in altre località in analoghe ricerche. Esso corrisponde sostanzialmente a quello rilevato per l'insieme delle stesse tre località nelle ricerche preliminari.

TABELLA 5

Confronti tra le percentuali di diffusione dell'ossiuriasi: valori di t.

a) *tra classi di età*

	5 / 7-9	6 / 10-12	7-9 / 10-12
Popolazione totale	1,385	2,390*	1,448
Alfano	0,627	2,277**	2,478*

b) *tra località*

Alfano / Laurito	Alfano / Rofrano	Laurito / Rofrano
2,969	0,540	4,145

$P < 0{,}01$ per $n > 30$ e $t > 2{,}575$

* P tra 0,02 e 0,01
** P tra 0,05 e 0,02

2) Nella popolazione totale si osserva un incremento della diffusione percentuale dell'ossiuriasi con il progredire dell'età. Le differenze tra le percentuali dei tre gruppi risultano significative alla prova di omogeneità secondo Brandt e Snedecor: si ottiene infatti chi^2 = 6,850, da cui per $n = 2$ si ha P tra 0,05 e 0,02, un valore probativo cioè della eterogeneità dei tre gruppi. Il confronto diretto tra le varie classi, i cui risultati sono riportati in Tabella 5, *a*, mostra però che effettivamente significativa è solo la D% tra i soggetti di 6 e quelli di 10-12 anni. Quanto alle singole località, sempre in relazione all'età, andamento dei valori percentuali analogo a quello della popolazione totale si rileva ad Alfano e, in minor misura, a Rofrano, mentre per Laurito si ha un minor valore per i soggetti di 6 anni e un pari valore per le altre due classi. Solo per Alfano però si ottiene

dalla prova di omogeneità un valore di chi² (11,152, da cui si ha $P < 0{,}01$) che depone per la reale differenza tra i tre gruppi di età, differenza confortata anche dai risultati dei possibili confronti tra essi (Tabella 5, *a*). Per Laurito e Rofrano i valori di chi² che si ricavano dalla prova di omogeneità sono rispettivamente 1,090 e 0,887, per cui le differenze che si rilevano possono essere puramente casuali; i confronti diretti confermano tale risultato, portando a valori di *t* sempre molto bassi.

3) Maschi e femmine, considerati nel loro complesso, risultano presentare identico grado di infestazione. Dall'esame dei dati parziali per le classi di età del complesso dei soggetti, da quelli totali di ogni località, ed ancor più da quelli per le classi di età di ciascuna di queste si rilevano però spesso sensibili divergenze tra i valori percentuali dei due sessi: la diffusione dell'ossiuriasi sembrerebbe per esempio maggiore tra i maschi ad Alfano e Laurito, e tra le femmine a Rofrano; e maggiore a 6 anni nelle femmine, e nei maschi nelle altre età.Nessuna di tali differenze raggiunge però la soglia della significatività statistica, e tutte possono perciò essere attribuite alla casualità della distribuzione.

4) Alfano e Rofrano appaiono caratterizzati da pressoché identico indice percentuale di infestazione; Laurito mostra invece un indice sensibilmente superiore. Le D% tra Laurito e gli altri due centri risultano statisticamente significative sia al vaglio della prova di omogeneità che al confronto diretto delle popolazioni tra loro: nel primo caso si ha infatti chi² = 17,713, da cui si ha $P < 0{,}01$, che depone per la non omogeneità delle tre popolazioni; nel secondo, come esposto in Tabella 5, *b*, la conferma della differenza tra Laurito e ciascuna delle altre due località, e della non differenziabilità di queste ultime tra loro.

*

* *

Confrontando i dati dei maschi della classe di 7-9 anni con quelli analoghi delle ricerche preliminari si rileva che i valori percentuali risultano: per Alfano un poco superiori, per Laurito nettamente superiori, per Rofrano un poco minori. Le differenze non sono statisticamente significative per Alfano e Rofrano, ma appaiono tali per Laurito, ottenendosi dal confronto un valore di $t = 2{,}074$, da cui si ha *P* tra 0,05 e 0,02.

Questa differenza tra i due gruppi di Laurito non appare facilmente spiegabile: anche se tra i due esami sono intercorsi 21 mesi, l'identità del sesso e della classe di età avrebbe infatti dovuto, come avvenuto nelle altre due località, portare a valori simili di diffusione dell'ossiuriasi. Si può in proposito far soltanto presente che gli elementi disponibili sembrerebbero deporre per una sua attribuzione a fattori intrinseci ai due gruppi presi in esame, e cioè ad una diversa suscettibilità verso l'ossiuriasi dei loro componenti. Tali elementi sono forniti da 23 soggetti comuni ai due esami;

in essi infatti la percentuale di infestazione è rimasta pressoché identica (1° esame: 56,52%; 2° esame: 60,87%), anche se in parte si è avuto un passaggio da positivi a negativi e viceversa (14 soggetti, di cui 9 positivi e 5 negativi, senza variazioni; 4 da positivi a negativi; 5 da negativi a positivi).

Diffusione e distribuzione delle altre parassitosi intestinali

La composizione della popolazione sottoposta ad esame delle feci, per località, per sesso e per età è indicata in Tabella 6; essa coincide con quella degli esaminati con il nastro di cellofan adesivo solo per i soggetti di Rofrano.

La diffusione del parassitismo intestinale è risultata veramente eccezionale, in tutti e tre i centri apparendo pressoché totalitaria. Sui 606 soggetti esaminati ben 588 sono risultati positivi, pari al 97,03%; tra essi 83, e cioè il 14,12%, albergavano una sola specie parassita, mentre negli altri 505, e cioè nell'85,88%, il numero delle specie presenti è andato da due a sette.

Sono state complessivamente repertate dodici specie, e precisamente sette Protozoi — *Entamoeba coli, Entamoeba histolytica, Endolimax nana, Jodamoeba bütschlii, Trichomonas intestinalis, Chilomastix mesnili, Giardia intestinalis* —, e cinque Elminti — *Hymenolepis nana, Hymenolepis diminuta, Ascaris lumbricoides, Enterobius vermicularis, Trichuris trichiura*

Tabella 6

Distribuzione per località, sesso ed età dei soggetti sottoposti ad esame delle feci.

Anni		6	7	8	9	10	11	12	6-12	totale
Alfano	maschi	10	10	8	7	9	4	12	60	155
	femmine	7	11	7	15	9	4	2	55	
Laurito	maschi	9	6	10	16	10	10	9	70	137
	femmine	9	8	9	12	18	7	4	67	
Rofrano	maschi	31	23	29	35	30	19	20	187	354
	femmine	35	27	22	21	29	18	15	167	
Popolazione totale	maschi	50	39	47	58	49	33	41	317	606
	femmine	51	46	38	48	56	29	21	289	
	totale	101	85	85	106	105	62	62	606	

Nella Tabella 7 sono indicate, per ciascuna località e per la popolazione totale esaminata, le frequenze percentuali del parassitismo in generale e di ciascuna specie repertata per sesso, per classi di età di tre anni — circa la composizione di queste vale quanto detto riferendo sulla diffusione dell'ossiuriasi —, e totali. In base a tali dati è possibile fare alcune considerazioni.

Tabella 7

Diffusione percentuale delle specie repertate all'esame delle feci per sesso, per classi di età e globali, nelle singole località e nella popolazione totale.

		numero esaminati	% parassitati	*E. coli*	*E. histolytica*	*E. nana*	*J. bütschlii*	*T. intestinalis*	*C. mesnili*	*G. intestinalis*	*H. nana*	*H. diminuta*	*A. lumbricoides*	*E. vermicularis*	*T. trichiura*
Alfano	sesso M	60	100,00	11,67	1,67	5,00	—	3,33	—	16,67	11,67	—	85,00	1,67	90,00
	F	55	100,00	16,36	3,64	10,91	5,45	—	1,82	20,00	12,73	1,82	81,82	3,64	94,55
	classi di età 6	17	100,00	5,88	5,88	5,88	—	—	—	17,65	—	—	100,00	—	70,59
	7/9	58	100,00	6,90	—	1,72	—	3,45	1,72	18,97	13,79	1,72	79,31	1,72	96,55
	10/12	40	100,00	27,50	5,00	17,50	7,50	—	—	17,50	15,00	—	82,50	5,00	95,00
	totale	115	100,00	13,91	2,61	7,83	2,61	1,74	0,87	18,26	12,17	0,87	83,48	2,61	92,17
Laurito	sesso M	70	97,14	5,71	1,43	14,29	2,86	—	—	25,71	7,14	—	80,00	4,29	94,29
	F	67	98,51	5,97	2,99	20,90	4,48	—	1,49	29,85	14,93	—	59,70	1,49	97,01
	classi di età 6	18	94,44	—	—	16,67	—	—	—	27,78	22,22	—	66,67	—	88,89
	7/9	61	98,36	8,20	1,64	16,39	3,28	—	—	24,59	13,11	—	68,85	3,28	98,36
	10/12	58	98,28	5,17	3,45	18,97	5,17	—	1,72	31,03	5,17	—	72,41	3,45	94,83
	totale	137	97,81	5,84	2,19	17,52	3,65	—	0,73	27,74	10,95	—	70,07	2,92	95,62
Rofrano	sesso M	187	95,19	27,27	3,74	10,16	5,88	1,07	3,74	20,86	9,63	—	71,12	2,14	88,24
	F	167	96,41	28,74	8,38	11,98	6,59	1,20	3,59	14,37	7,78	—	80,24	2,99	82,62
	classi di età 6	66	93,94	18,18	4,55	6,06	4,55	3,03	1,52	30,30	13,64	—	75,76	1,52	90,91
	7/9	157	98,73	25,48	5,10	10,19	5,73	0,64	5,10	19,75	7,64	—	77,71	3,18	88,54
	10/12	131	93,13	35,88	7,63	14,50	7,63	0,76	3,05	9,16	7,63	—	72,52	2,29	87,02
	totale	354	95,76	27,97	5,93	11,02	6,21	1,13	3,67	17,80	8,76	—	75,42	2,54	88,42
Popolazione totale	sesso M	317	96,53	19,56	2,84	10,09	4,10	1,26	2,21	21,24	9,46	—	75,71	2,52	89,91
	F	289	97,58	21,11	6,23	13,84	5,88	0,69	2,77	19,03	10,38	0,35	75,78	2,77	91,70
	classi di età 6	101	95,05	12,87	3,96	7,92	2,97	1,98	0,99	27,72	12,87	—	78,22	0,99	87,13
	7/9	276	98,91	17,75	3,26	9,78	3,99	1,09	3,26	20,65	10,14	0,36	76,09	2,90	92,39
	10/12	229	95,63	26,64	6,11	16,16	6,99	0,44	2,18	16,16	8,30	—	74,24	3,06	90,39
	totale	606	97,03	20,30	4,46	11,88	4,95	0,99	2,48	20,13	9,90	0,17	75,74	2,64	90,76

1) La diffusione del parassitismo in generale risulta identica nei maschi e nelle femmine, considerati nel loro complesso, sia a livello di ciascuna località che nella popolazione totale esaminata.

Anche nei confronti delle singole specie parassite, nella popolazione totale esaminata, si osservano tra i due sessi solo piccole differenze tra le percentuali nessuna delle quali è statisticamente significativa, ad eccezione di quella che si rileva per *E.histolytica;* per questa specie si ottiene infatti $t = 2{,}029$, da cui si ha P tra 0,05 e 0,02, un valore che depone cioè per una effettiva maggiore diffusione della specie nelle femmine che non nei maschi. A livello delle singole località si osservano invece spesso tra maschi e femmine D% assai più accentuate; la quasi totalità di esse rientrano però, al vaglio statistico, nell'ambito delle variazioni casuali: le sole eccezioni si rilevano per *A.lumbricoides,* che risulterebbe sensibilmente più frequente nei maschi a Laurito — il confronto dà $t = 2{,}595$, per cui è $P < 0{,}01$ — e nelle femmine a Rofrano — dal confronto si ha $t = 1{,}991$, da cui si ha P tra 0,05 e 0,02.

TABELLA 8

Prova della omogeneità tra le classi di età di 3 anni della popolazione totale nei riguardi del parassitismo intestinale e delle specie più diffuse: valori di chi².

Parassitismo in generale	*E. coli*	*E. histolytica*	*E. nana*	*J. bütschlii*	*G. intestinalis*	*H. nana*	*A. lumbricoides*	*T. trichiura*
12,241	10,254	2,833	6,514*	3,782	6,181*	1,674	1,690	6,345*

$P < 0{,}01$ per $n = 2$ e chi² $> 9{,}210$

* P è tra 0,05 e 0,02.

TABELLA 9

Confronti tra le classi di età della popolazione totale nei riguardi del parassitismo in generale e delle specie più diffuse: valori di t.

	6 / 7-9	6 / 10-12	7-9 / 10-12
Parassitismo in generale	2,231*	0,233	2,326**
E. coli	1,132	2,765	2,409**
E. nana	0,551	2,014*	2,140*
G. intestinalis	1,454	2,433**	1,290
A. lumbricoides	0,440	0,774	0,480
T. trichiura	1,579	0,888	0,803

$P < 0{,}01$ per $n > 30$ e $t > 2{,}575$

* P tra 0,05 e 0,02

** P tra 0,02 e 0,01

Da quanto esposto è evidente che le differenze per sesso possono essere considerate di relativamente scarsa entità, e pertanto tali da autorizzare ad elaborare tutti gli altri dati cumulativamente, senza tener conto cioè del sesso dei soggetti.

2) Le differenze tra le percentuali di diffusione del parassitismo in generale che si rilevano tra le varie classi di età, sia nella popolazione totale esaminata che in quella delle singole località, sono contenute, quando presenti, entro limiti ristretti; la stessa altissima incidenza del parassitismo impedisce ovviamente, in questo ed in altri casi, che si possano verificare escursioni sensibili. Esse risultano tuttavia statisticamente significative; risulta cioè, sia dalla prova di omogeneità (Tabella 8), in cui il valore di chi^2 depone con certezza ($P < 0{,}01$) per l'eterogeneità delle tre classi, sia dal confronto due a due tra le classi stesse (Tabella 9), che i soggetti di 7-9 anni si differenziano effettivamente sia da quelli di 6 che da quelli di 10-12 per un maggior grado di infestazione.

Considerando le singole località si osserva che a Rofrano si ripete esattamente tale comportamento: la prova di omogeneità dà chi^2 = 11,268, per cui è $P < 0{,}01$; il confronto tra le classi di 6 e 7-9 anni $t = 2{,}021$, da cui si ha P tra 0,05 e 0,02, e quello tra le classi di 7-9 e 10-12 anni $t = 2{,}477$, da cui si ha P tra 0,02 e 0,01;le conclusioni non possono quindi che essere identiche a quelle fatte per la popolazione totale esaminata. La minore percentuale che si rileva a Laurito per la classe di 6 anni in confronto alle altre due non è invece significativa.

Anche nei confronti dei singoli parassiti si osserva in vari casi, nella popolazione totale esaminata, una precisa influenza dell'età sulla diffusione. La prova di omogeneità tra le tre classi di età dà infatti valori di chi^2 che depongono per la validità delle differenze che si rilevano tra esse per *E. coli, E. nana, G. intestinalis* e *T. trichiura* (Tabella 8). Il confronto due a due tra le singole classi (Tabella 9) dimostra poi:

a) che per *E. coli* le classi di 6 e 7-9 anni non sono differenziabili tra loro, ma che lo sono ambedue nettamente da quella di 10-12; si può pertanto concludere che la diffusione della specie è effettivamente più alta nella classe di maggiore età, e che pertanto la frequenza di essa tende ad aumentare con il progredire dell'età.

b) che per *E. nana* si verifica un comportamento identico a quello ora illustrato per *E. coli;* identiche a quelle tratte per questa specie saranno quindi anche le conclusioni.

c) che per *G. intestinalis* solo il confronto tra le classi di 6 anni e di 10-12 risulta significativo; si può quindi affermare la reale esistenza di differenze nella diffusione della protozoosi solo tra queste due classi estreme; il dato è comunque probativo della regressione della frequenza di *G. intestinalis* di pari passo con il progredire dell'età.

d) che per *T. trichiura* nessuno dei confronti dà valori di t che diano significatività alle differenze osservate, venendo così ad essere limitato il risultato della prova di omogeneità.

Il comportamento di *E. coli* nella popolazione totale esaminata si ripete abbastanza ordinatamente anche a livello delle singole località, e ciò nonostante la sensibilmente diversa diffusione della specie in esse. Sostanzialmentemente lo stesso si verifica per *E. nana,* salvo che per Laurito ove la specie, che qui raggiunge il massimo di incidenza, risulta ugualmente ripartita in tutte le età. Per quanto riguarda *G. intestinalis* la differenza in relazione all'età è ben evidente per Rofrano: la prova di omogeneità dà chi^2 = 14.082, per cui è $P < 0{,}01$, che appunto conferma l'eterogeneità dei tre gruppi per il carattere in esame; il confronto diretto tra le classi di età consente poi di stabilire che la classe di 10-12 anni si differenzia nettamente sia da quella di 6 anni ($t = 3{,}802$, da cui si ha $P < 0{,}01$) che da quella di 7-9 anni ($t = 2{,}143$, da cui si ha P tra 0,05 e 0,02); non risulta invece statisticamente significativa la D% tra le classi di 6 e 7-9 anni ($t = 1{,}712$, da cui si ha P tra 0,1 e 0,05). Differenze nella diffusione di *G. intestinalis* per età non si rilevano invece per Alfano e Laurito; in quest'ultima località si ha anzi che il valore percentuale massimo è presentato dai soggetti di 10-12 anni.

Per *E. histolytica, J. bütschlii* e *H. nana,* dai dati percentuali per la popolazione totale esaminata, sembrerebbe manifestarsi, di pari passo con il progredire dell'età, una certa tendenza all'aumento della diffusione per le prime due, ed alla diminuzione per la terza. Nessuna delle D% tra classe e classe di età risulta però statisticamente significativa.

Quanto infine ai due parassiti più diffusi, *A. lumbricoides* e *T. trichiura,* i dati relativi alla popolazione totale esaminata mostrano per ambedue, per i tre gruppi di età, valori assai prossimi. Va in proposito però osservato che essi risultano essere la media di valori, quelli particolari delle singole

Tabella 10

Prova della omogeneità tra le tre località nei riguardi del parassitismo in generale e delle specie più diffuse: valori di chi^2.

Parassitismo in generale	*E. coli*	*E. histolytica*	*E. nana*	*J. bütschlii*	*G. intestinalis*	*H. nana*	*A. lumbricoides*	*T. trichiura*
11,379	33,395	4,761	6,115*	3,413	6,643*	1,348	7,251*	10,285

$P < 0{,}01$ per $n = 2$ e chi$^2 > 9{,}210$

* P è tra 0,05 e 0,02

TABELLA 11

Confronti tra le tre località nei riguardi del parassitismo in generale e delle specie più diffuse: valori di t.

	Alfano / Laurito	Alfano / Rofrano	Laurito / Rofrano
Parassitismo in generale	1,598	2,255*	1,084
E. coli	2,175*	3,049	5,332
E. nana	2,274*	0,981	1,934
G. intestinalis	1,771	0,111	2,448**
A. lumbricoides	2,492**	1,799	1,213
T. trichiura	1,153	1,132	2,432**

$P < 0,01$ per $n > 30$ e $t > 2,575$

* P è tra 0,05 e 0,02
** P è tra 0,02 e 0,01

località, spesso molto dissimili: la classe di 6 anni presenta per esempio per *A. lumbricoides* il valore massimo ad Alfano, il minimo a Laurito ed uno intermedio a Rofrano; e per *T. trichiura* si ha che ad Alfano la classe di 6 anni si distingue nettamente dalle altre due, come confortato sia dalla prova di omogeneità (chi^2=14,055, per cui è $P < 0,01$) e dal confronto diretto (tra le classi di 6 e 7-9 anni si ha $t = 3,236$, da cui si ha $P < 0,01$; e tra quelle di 6 e 10-12 anni $t = 2,569$, da cui si ha P tra 0,02 e 0,01), ciò che non avviene affatto a Laurito e Rofrano.

3) Le D% che si rilevano nella diffusione del parassitismo in generale tra località e località, nonostante la loro lieve entità, sono sufficienti a differenziare, statisticamente, i centri stessi. La prova di omogeneità dà infatti un valore di chi^2 probativo della eterogeneità (Tabella 10); dal confronto tra le località stesse (Tabella 11) risulta però che solo la D% tra Alfano e Rofrano è significativa.

Quanto alla diffusione dei singoli parassiti si rilevano invece tra località e località D% spesso molto accentuate; esse risultano in buona parte statisticamente significative, e si deve quindi ammettere che in proposito esistano effettivamente tra le varie località differenze nella diffusione. E' bene subito precisare che su tali differenze non influisce affatto l'età dei soggetti — almeno per le specie in cui è stata posta in evidenza l'influenza dell'età sulla diffusione — in quanto le popolazioni dei tre centri presentano una distribuzione percentuale dei soggetti nelle tre classi di età sostanzialmente uguale.

La prima, e la più consistente, differenza nella diffusione tra i tre centri si nota per *E. coli;* l'alto valore di chi^2 (Tabella 10) che si ricava dalla prova di omogeneità afferma decisamente l'eterogeneità delle tre località nei confronti di questa specie; ed i valori di t che si ricavano dai possibili confronti (Tabella 11) confermano appunto che ogni località è ben

differenziabile dalle altre due, e che quindi la frequenza di *E. coli* è più alta a Rofrano che non ad Alfano e Laurito, e ad Alfano più che a Laurito.

Anche differente risulta, sempre alla prova di omogeneità (Tabella 10) la diffusione nei tre centri di *E.nana*, *G. intestinalis*, *A. lumbricoides* e *T. trichiura*. Le D% tra località e località si dimostrano però, qui, al confronto, solo in parte statisticamente significative. I risultati dei confronti sono riportati in Tabella 11, e in base ad essi si può affermare che effettivamente, con tutta probabilità: *a*) la diffusione di *E.nana* è maggiore a Laurito che non ad Alfano; *b*) quella di *G. intestinalis* e di *T.trichiura* è maggiore a Laurito che non a Rofrano; *c*) quella di *A. lumbricoides* è più alta ad Alfano che a Laurito. Tutte le altre differenze che si rilevano tra le varie località possono infatti rientrare nella casualità della distribuzione.

*

* *

Allo scopo di definire nel modo più completo possibile le condizioni del parassitismo intestinale nella zona oggetto del presente studio, si è ritenuto interessante calcolare anche l'indice di incidenza *pro capite* — rapporto tra totale dei casi rilevati e numero dei soggetti — delle specie repertate all'esame delle feci, nel loro complesso e ripartite in Protozoi ed Elminti. I risultati di tale indagine, per classi di età, per sesso e totali

Tabella 12

Incidenza del parassitismo intestinale come numero di specie pro capite.

		Protozoi	Elminti	Protozoi + Elminti
Alfano	maschi	0,38	1,88	2,27
	femmine	0,58	1,95	2,53
	totale	0,48	1,91	2,39
Laurito	maschi	0,50	1,86	2,36
	femmine	0,66	1,73	2,39
	totale	0,58	1,80	2,37
Rofrano	maschi	0,73	1,71	2,44
	femmine	0,75	1,80	2,54
	totale	0,74	1,75	2,49
Popolazione totale	maschi	0,61	1,78	2,39
	femmine	0,70	1,81	2,51
	totale	0,65	1,79	2,44

TABELLA 13

Incidenza del parassitismo intestinale come numero di specie pro capite nelle classi di età.

Classi di età	Protozoi				Elminti				Protozoi + Elminti			
	Alfano	Laurito	Rofrano	Popolazione totale	Alfano	Laurito	Rofrano	Popolazione totale	Alfano	Laurito	Rofrano	Popolazione totale
6	0,35	0,44	0,68	0,58	1,71	1,78	1,82	1,79	2,06	2,22	2,50	2,38
7/9	0,33	0,54	0,72	0,60	1,93	1,84	1,77	1,82	2,26	2,38	2,49	2,42
10/12	0,75	0,66	0,79	0,75	1,98	1,76	1,69	1,76	2,73	2,41	2,48	2,51

per la popolazione globale e per ciascuna delle tre località sono raccolti nelle Tabelle 12 e 13.

Emergono da esse i seguenti elementi:

1) A costituire l'indice totale di infezione contribuiscono in ogni caso in modo molto diverso i Protozoi e gli Elminti, i primi entrando in media solo per poco più di un quarto (26,64%) nella formazione dell'indice stesso.

2) L'indice totale di infezione presenta minime variazioni tra le tre località, ma gli elementi che concorrono a formarlo sono diversi in ciascuna di esse: i Protozoi rappresentano infatti il 20,08% del totale ad Alfano, il 24,47% a Laurito ed il 29,72% a Rofrano; a Rofrano si verifica cioè una più alta incidenza di Protozoi ed una più bassa di Elminti, mentre l'inverso si ha ad Alfano, e condizioni intermedie a Laurito.

3) Il sesso femminile presenta, sul totale, una incidenza un poco maggiore dei Protozoi, mentre quasi identici per i due sessi sono i valori degli Elminti. Nelle singole località i valori sono più o meno concordanti: Rofrano presenta uguale diffusione per i Protozoi, Alfano la massima divergenza; per gli Elminti, in contrasto con quanto si verifica negli altri due centri, a Laurito si nota una maggior diffusione nei maschi.

4) L'indice parassitario nella popolazione totale cresce lievemente con l'età, ma tale incremento si deve sostanzialmente ai soli Protozoi; per gli Elminti la classe di 10-12 anni è infatti quella che presenta il minimo valore. A livello delle singole località si nota: *a*) per il totale dei parassiti: incremento sensibile ad Alfano e assai più lieve a Laurito con il progredire dell'età, mentre identici per le tre classi di età risultano i valori di Rofrano; *b*) per i Protozoi: incremento con l'avanzare dell'età in tutte e tre le località; *c*) per gli Elminti: incremento con il progredire dell'età ad Alfano, lieve decremento a Rofrano, condizioni stazionarie a Laurito.

Considerazioni sulle specie repertate

Entamoeba coli: E' il protozoo percentualmente più diffuso nel complesso della popolazione esaminata; presenta diversa frequenza nelle tre località: massima, e veramente elevata, a Rofrano e minima a Laurito. Risulta ugualmente distribuito nei due sessi, ma non nei diversi gruppi di età la sua frequenza aumentando con questa.

Entamoeba histolytica - Questo parassita è stato sempre repertato in fase precistica o cistica; vengono riferite ad esso tutte le cisti tetranucleate, a cariosoma centrale e, in genere, con corpi cromatoidi. Il suo indice di frequenza percentuale medio non è elevato; a Rofrano è superiore a quello degli altri due centri; sempre percentualmente, si osserva un lieve incremento della sua frequenza con l'età ed una sua diffusione un po' maggiore nelle femmine.

Endolimax nana - Anche questo piccolo protozoo presenta una discreta frequenza nel totale della popolazione, e una diversa diffusione nei tre centri: la massima incidenza percentuale si ha a Laurito, la minima ad Alfano, con differenza tra questi due estremi statisticamente significativa; Rofrano ha un valore assai prossimo a quello della media, e non differenziabile statisticamente da quello degli altri due centri. Anche per *E.nana* si osserva un incremento della diffusione con il progredire dell'età. Percentualmente, sembrerebbe più frequente nelle femmine.

Jodamoeba bütschlii - L'indice di diffusione di questa specie nella popolazione totale esaminata non è elevato. Percentualmente la sua frequenza cresce da Alfano e Laurito a Rofrano, è lievemente maggiore nelle femmine e cresce con l'aumentare dell'età.

Trichomonas intestinalis - Questa specie, di molto bassa incidenza generale, è stata repertata solo ad Alfano e Rofrano. Il piccolo numero dei reperti non permette alcuna illazione, ma si può tuttavia segnalare come la sua frequenza nella popolazione totale esaminata appaia dimezzarsi di classe in classe di età.

Chilomastix mesnili - Anche questo protozoo presenta scarsa diffusione: repertato una sola volta sia ad Alfano che a Laurito, la sua frequenza sembrerebbe un poco maggiore a Rofrano.

Giardia intestinalis - La diffusione di questa specie nella popolazione totale esaminata raggiunge il livello, particolarmente ragguardevole ove si consideri che si tratta di bambini di 6-12 anni, di quella di *E.coli*, e come questa specie risulta diversamente frequente nei tre centri. La massima incidenza si ha per Laurito e la minima a Rofrano; la D% tra le due località risulta statisticamente significativa. La distribuzione per sesso non dimostra nella popolazione totale esaminata differenze degne di nota,

mentre queste esistono per età nel senso che la diffusione stessa diminuisce con il progredire di essa. Tale ultimo comportamento è ancor meglio evidente a Rofrano; mentre nessuna analoga differenza per età si pone in evidenza a Laurito e soprattutto ad Alfano, ove anzi il massimo valore percentuale si rileva addirittura nella classe di età più avanzata.

Il grado di infezione, da quanto si è potuto giudicare in base alla ricchezza in cisti delle feci, è apparso di regola abbastanza contenuto; solo di rado sono state poste in evidenza infezioni massive. Ciò potrebbe essere in relazione con l'età già relativamente avanzata della maggior parte dei soggetti presi in esame. L'influenza dell'età sulla diffusione di *G. intestinalis* è stata posta in evidenza dallo scrivente in altri lavori (3,4).

Hymenolepis nana - L'imenolepiasi presenta un grado abbastanza elevato di diffusione con piccole differenze tra le percentuali delle tre località: il valore massimo si rileva ad Alfano ed il minimo a Rofrano. Nessuna differenza si pone in evidenza quanto al sesso. Percentualmente, si osserva nella popolazione totale una tendenza alla diminuzione della frequenza con il progredire dell'età; tale tendenza è molto evidente a Laurito e si nota anche a Rofrano; ad Alfano invece neppure un caso di questa parassitosi è stato repertato nei soggetti di 6 anni, contro valori superiori a quelli della media generale per le altre due classi di età. Anche il fatto della progressiva diminuzione della frequenza di *H.nana* con il progredire dell'età era già stato posto in luce dallo scrivente a Lampedusa, località con elevatissimo indice di infestazione (4). Pure per questa elmintiasi solo raramente sono stati posti in evidenza notevoli quantitativi di uova allo esame delle feci.

Hymenolepis diminuta - Questa specie, parassita abituale dei ratti, è stata repertata, secondo i dati presi in considerazione nel presente lavoro e cioè le risultanze di un solo e primo esame delle feci, una sola volta ad Alfano in una femmina di 9 anni.

Ai fini della miglior conoscenza delle condizioni parassitarie della zona, si ritiene però opportuno segnalare che un altro caso di tale rara parassitosi è stato posto in evidenza a Rofrano e precisamente in uno dei soggetti, un maschio di 10 anni, che fu sottoposto a ripetuti esami delle feci in quanto facente parte dei « controlli » dell'esperimento sopra ricordato sui rapporti tra parassitismo intestinale e accrescimento infantile (1). Il caso fu accertato all'ultimo esame di controllo, nell'ottobre 1959; le feci del soggetto rimasero positive per il parassita per un periodo di almeno quattro mesi: le uova risultarono infatti ancora presenti ad un esame appositamente esperito, nel corso di un successivo soggiorno nella località, nel febbraio 1960.

Ascaris lumbricoïdes - La diffusione di questo elminto è risultata

pienamente conforme, se non superiore, a quella che si era potuta supporre in base alle ricerche preliminari con il nastro di cellofan adesivo. Sempre molto elevata, la sua frequenza non è risultata omogenea nei tre centri, la punta massima avendosi ad Alfano e la minima a Laurito, con D% tra le due località statisticamente significativa. Nessuna differenza nella diffusione si rileva tra i due sessi, mentre, percentualmente, sembrerebbe evidenziarsi nella popolazione totale esaminata una lieve decrescenza con il progredire dell'età; è rimarchevole in proposito il fatto che nella località più colpita la totalità dei soggetti di 6 anni esaminati è risultata parassitata. Pur non essendo stato effettuato il conteggio delle uova nelle feci, si può con certezza affermare che l'infestazione deve essere nella maggior parte dei casi piuttosto intensa: assai di frequente si è verificato infatti il reperto di uova all'esame microscopico diretto, ed altrettanto di frequente è risultato elevatissimo il numero di uova raccolte ad ogni ansata di arricchimento. Nel corso di trattamenti antielmintici operati a Rofrano (5) si è avuta del resto una conferma diretta della intensità delle infestazioni: molto numerosi sono stati invero i casi in cui si è avuta l'emissione di più di dieci ascaridi fino ad un massimo di alcune decine.

Enterobius vermicularis - Il reperto di questo parassita all'esame delle feci si può, come noto, considerare del tutto occasionale e non ha quindi alcun significato ai fini della definizione del grado di diffusione della parassitosi; per la zona in esame questa è già stata del resto ampiamente illustrata.

Trichuris trichiura - L'incidenza di questo parassita è risultata eccezionale, ancora superiore a quella, pur elevatissima, che avevano lasciato supporre le ricerche preliminari con il nastro di cellofan adesivo. Anche se contenute entro brevi limiti, appaiono esistere differenze nella diffusione tra i tre centri, con la punta più alta a Laurito e la più bassa a Rofrano; la D% tra queste due località è statisticamente significativa. La parassitosi appare ugualmente ripartita nei due sessi, mentre una certa tendenza all'aumento della diffusione sembra notarsi, percentualmente, con il progredire dell'età. A giudicare dal reperto di uova all'esame diretto delle feci e dal numero di quelle rivelatesi all'arricchimento, le infestazioni non raggiungono per lo più livelli di notevole intensità.

*

* *

Il quadro del parassitismo intestinale nella zona in esame non risulterebbe completo se non si facesse menzione di un'altra specie, la cui presenza è stata accertata esclusivamente a mezzo del nastro di cellofan adesivo, e cioè *Taeniarhynchus saginatus*. Due casi di questa parassitosi sono stati infatti identificati a Rofrano ad uno degli esami di controllo del

già ricordato esperimento sulle relazioni tra parassitismo intestinale ed accrescimento infantile: uno apparteneva ai soggetti trattati e l'altro ai non trattati; in ambedue i casi si è trattato di femmine, una di 7 e l'altra di 8 anni. Si rammenta anche che un terzo caso fu identificato, nelle ricerche preliminari, in un soggetto, una femmina di 11 anni, di Sanza.

ASSOCIAZIONI PARASSITARIE

La frequenza del poliparassitismo è risultata, come già detto, estremamente elevata in tutta la popolazione esaminata. I casi rilevati sono stati complessivamente 506, pari all'86,05% dei casi di parassitismo. La diffusione è risultata in genere piuttosto omogenea: nella popolazione totale esaminata non si pongono in effetti in evidenza variazioni degne di nota delle percentuali né in relazione al sesso (maschi = 84,97%; femmine = 87,23%), né all'età (Tabella 15), né per località (Tabella 16). D% un poco più sensibili, con distribuzione irregolare, si rilevano per sesso e

TABELLA 14

Composizione e frequenza delle associazioni parassitarie.

n. delle specie associate	Protozoi	Elminti	Alfano		Laurito		Rofrano		Popolazione totale	
			n. dei tipi di associazione	n. dei casi	n. dei tipi di associazione	n. dei casi	n. dei tipi di associazione	n. dei casi	n. dei tipi di associazione	n. dei casi
7	4	3	1	1	—	—	—	—	1	1
6	4	2	—	—	—	—	3	4	3	4
	3	3	—	—	1	1	—	—	1	1
5	4	1	—	—	—	—	2	2	2	2
	3	2	1	1	3	4	6	10	6	15
	2	3	1	1	1	1	3	3	5	5
	1	4	—	—	—	—	1	1	1	1
4	3	1	—	—	—	—	5	5	5	5
	2	2	4	8	5	8	13	36	14	52
	1	3	3	4	4	4	3	7	6	15
	—	4	—	—	—	—	1	1	1	1
3	2	1	—	—	2	3	3	11	4	14
	1	2	6	16	2	24	9	63	10	10
	—	3	2	8	2	8	2	17	2	33
2	2	—	—	—	—	—	1	1	1	1
	1	1	4	9	3	10	5	18	6	37
	—	2	3	54	3	50	2	112	4	216
Totale			25	102	26	113	59	291	72	506

TABELLA 15

Diffusione percentuale del poliparassitismo nelle classi di età della popolazione totale, nelle singole località e nella popolazione totale (% su parassitati).

n. delle specie associate	classi di età 6	7/9	10/12	Alfano	Laurito	Rofrano	Popolazione totale
7	—	—	0,46	0,87	—	—	0,17
6	1,04	1,10	0,46	—	0,75	1,18	0,85
5	2,08	3,66	5,02	1,74	3,73	4,72	3,91
4	11,46	9,16	16,89	10,43	8,96	14,45	12,41
3	29,17	26,01	23,29	20,87	26,12	26,84	25,51
2	44,79	44,69	40,64	54,78	44,78	38,64	43,20
Totale	88,54	84,62	86,76	88,70	84,33	85,84	86,05

per classi di età nelle singole località; nessuna di esse risulta però statisticamente significativa.

Nella Tabella 14 è riportata in sintesi la composizione, con semplice ripartizione in Protozoi ed Elminti, delle associazioni parassitarie rilevate, il numero dei tipi di associazione e quello dei casi osservati per le singole località e per la popolazione totale. In Tabella 15 sono riferiti i dati relativi alla distribuzione percentuale del poliparassitismo, calcolata sui soggetti parassitati, nelle classi di età, nella popolazione dei singoli centri ed in quella totale esaminata. Mentre per le classi di 6 e di 7-9 anni i valori sono quasi identici, per quella di 10-12 anni si osserva, nei confronti delle altre due, una maggiore frequenza dei gradi più elevati di poliparassitismo: considerando infatti insieme i soggetti con 4-7 parassiti si ha per essa un valore globale del 22,83% contro il 14,58% della classe di 6 anni ed il 13,58% di quella di 7-9 anni. Quanto ai dati per località, fenomeno analogo, una maggior diffusione cioè delle forme più complesse di poliparassitismo, si rileva a Rofrano nei confronti degli altri due centri.

TABELLA 16

Distribuzione per età dei soggetti esaminati e diffusione dell'ossiuriasi.

anni	6		7		8		9		10		Totale		7/9	
	n. soggetti	% parassitati	n. soggetti	% parassitati	n. soggetti	% parassitati	n. soggetti	% parassitati	n. soggetti	% parassitati	n. soggetti	% parassitati	n. soggetti	% parassitati
Montano	11	64,64	15	60,00	12	75,00	—	—	—	—	38	65,79	(27)	(66,67)
Sanza	7	0	31	45,16	33	45,45	15	53,53	5	40,00	91	42,86	79	46,84

MONTANO ANTILIA, SANZA

I dati relativi alla diffusione del parassitismo intestinale in queste due località sono stati forniti da un campione delle popolazioni dei due paesi esaminato presso il Soggiorno-Vacanza A.A.I. di Cava dei Tirreni nel luglio 1960; gli esami vennero effettuati: quello con il nastro di cellofan adesivo subito dopo l'arrivo alla colonia, e l'esame delle feci entro i tre giorni successivi. Tale campione è costituito complessivamente da 129 soggetti maschi, ed in particolare da 38 di Montano Antilia tra i 6 e gli 8 anni, e da 91 di Sanza tra i 6 ed i 10 anni.

I dati relativi alla composizione per età delle due popolazioni, unitamente a quelli sulla diffusione dell'ossiuriasi sono riportati in Tabella 16. In merito a quest'ultima non c'è troppo da dire: si può solo affermare che dal campione si rileverebbe una diffusione dell'ossiuriasi molto alta nelle più giovani classi di età di Montano Antilia, certo assai superiore a quella

TABELLA 17

Diffusione percentuale delle specie repertate all'esame delle feci.

	n. esaminati	% parassitati	*E. coli*	*E. histolytica*	*E. nana*	*J. bütschlii*	*C. mesnili*	*G. intestinalis*	*H. nana*	*A. lumbricoides*	*E. vermicularis*	*T. trichiura*
Montano	38	94,74	10,53	7,89	18,42	—	—	26,32	2,63	57,89	10,53	78,95
Sanza	90	100,00	23,33	3,33	20,00	2,22	1,11	26,67	5,56	75,56	1,11	92,22

che per le stesse età appare per Sanza (40,85%); quanto a questa località il suo grado di infestazione totale è nell'ambito di quella rilevata per il complesso delle altre tre località della zona, e in particolare appare identica, in base ai dati della classe di 7-9 anni dei maschi, a quella di Rofrano.

Giova osservare che la differenza tra Montano Antilia e Sanza posta in evidenza dai dati dei maschi, non trova corrispondenza nei risultati che a suo tempo si ebbero, nelle ricerche preliminari, con le femmine.

La rilevazione di differenze nella diffusione dell'ossiuriasi tra i due sessi, vista la distanza di tempo che separa le due raccolte di dati, è di valore relativo. Si ricorderà tuttavia ugualmente che, in base ai valori percentuali, si avrebbe: per Montano Antilia, dal confronto tra soggetti di pari età, una maggiore frequenza della parassitosi nei maschi che non nelle femmine (in queste è 50,00% su 28 soggetti); e per Sanza, dal confronto della classe di 7-9 anni, il contrario. Le D% non sono comunque statisticamente significative.

Quanto alle parassitosi messe in luce dall'esame delle feci, i dati relativi sono raccolti in Tabella 17. Solo degni di nota tra essi sono: l'alto valore percentuale che si osserva per *E.nana* e *G. intestinalis* in ambedue le località, e per *E. coli* a Sanza; i valori relativamente bassi di Montano Antilia per *A. lumbricoides* e *T. trichiura*.

*
* *

La differente composizione, per numero ed età dei soggetti, delle due popolazioni non consente una diretta comparazione dei dati globali; tanto

TABELLA 18

Diffusione percentuale dell'ossiuriasi nei soggetti maschi di 6-8 anni delle località studiate.

Località	n. esaminati	% parassitati
Alfano . . .	32	34,38
Laurito . .	40	72,50
Montano . .	38	65,79
Rofrano . .	83	43,37
Sanza . . .	81	41,98

meno questi possono essere messi a confronto con quelli delle popolazioni degli altri centri dell'« area di dimostrazione » in cui sono per giunta presenti ambo i sessi.

Poiché è tuttavia interessante avere almeno qualche dato indicativo circa la posizione parassitologica di Montano Antilia e Sanza nell'ambito della zona in studio, è stata posta in atto l'unica possibile comparazione:

TABELLA 19

Confronto tra le percentuali di diffusione dell'ossiuriasi nei maschi di 6-8 anni delle 5 località: valori di t.

	Laurito	Montano	Rofrano	Sanza
Alfano	3,235	2,621	0,879	0,743
Laurito	—	0,642	3,034	3,162
Montano	—	—	2,290*	2,422**
Rofrano	—	—	—	0,180

$P < 0{,}01$ per $n > 30$ e $t > 2{,}575$

* P tra 0,05 e 0,02
** P tra 0,02 e 0,01

quella cioè tra i soggetti maschi di 6-8 anni di tutte le località. I dati relativi all'esame con il nastro di cellofan adesivo sono esposti nella Tabella 18; quelli dell'esame delle feci in Tabella 20.

In merito alla diffusione dell'ossiuriasi, viste le sensibili D% tra centro e centro, sono stati istituiti i possibili confronti tra le percentuali

di infestazione delle varie località. I risultati, raccolti in Tabella 19 dimostrano che le località stesse possono essere ripartite in due gruppi: uno costituito da Alfano, Rofrano e Sanza e l'altro da Laurito e Montano Antilia. Nell'ambito di ciascun gruppo non si rilevano tra le località differenze statisticamente significative, mentre queste sono presenti tra tutte le località di un gruppo e tutte quelle dell'altro; in altri termini, Laurito e Montano Antilia, non differenziabili tra loro, sono caratterizzate da un grado di diffusione dell'ossiuriasi superiore a quello di Alfano, Rofrano e Sanza, località a loro volta non differenziabili tra loro.

TABELLA 20

Diffusione percentuale delle specie repertate all'esame delle feci nei soggetti maschi di 6-8 anni delle località studiate.

Località	n. esaminati	% parassitati	*E. coli*	*E. histolytica*	*E. nana*	*J. bütschlii*	*T. intestinalis*	*C. mesnili*	*G. intestinalis*	*H. nana*	*A. lumbricoides*	*E. vermicularis*	*T. trichiura*
Alfano . . .	28	100,00	10,71	3,57	3,57	—	7,14	—	14,29	7,14	89,29	—	89,29
Laurito . .	25	96,00	—	—	8,00	4,00	—	—	16,00	8,00	80,00	4,00	92,00
Montano . .	38	94,74	10,59	7,89	18,42	—	—	—	26,32	2,63	57,89	10,53	78,95
Rofrano . .	83	96,39	21,69	3,61	8,43	4,82	2,41	6,02	25,30	12,05	78,31	1,20	90,36
Sanza . . .	81	100,00	22,22	3,30	18,52	2,47	—	1,23	27,16	6,17	79,01	1,23	92,59

Quanto ai dati di Tabella 20, si ricava da essi che, percentualmente, nei confronti delle altre località, Montano Antilia presenta caratteri suoi particolari: diffusione non elevata di *E. coli*, altissima di *E. nana* e *G. intestinalis*, relativamente non alta di *A. lumbricoides* e *T. trichiura*. Sanza mostra invece caratteristiche assai simili a quelle di Rofrano, le uniche differenze di una certa entità tra i rispettivi valori percentuali rilevandosi per *E. nana*, in cui il valore è più elevato a Sanza, e per *H. nana*, in cui lo è a Rofrano. Va però precisato che di tutte le D% rilevabili tra le varie località per i singoli parassiti, le sole che raggiungono la significatività statistica sono quelle relative alla diffusione di *A. lumbricoides* tra Montano Antilia e Alfano ($t = 2{,}786$, da cui si ha $P < 0{,}01$), Rofrano ($t = 2{,}320$, da cui si ha $P = 0{,}02$) e Sanza ($t = 2{,}400$, da cui si ha P tra 0,02 e 0,01) — il confronto con Laurito dà invece $t = 1{,}882$, da cui si ha P tra 0,1 e 0,5 —, e che consentono quindi di affermare che la diffusione del parassita a Montano Antilia è effettivamente più bassa che non negli altri centri dell'« area di dimostrazione ». Per quanto riguarda il più basso valore percentuale di Montano Antilia per *T. trichiura*, esso si differenzia statisticamente solo da quello di Sanza, con $t = 2{,}154$, da cui si ha P tra 0,05 e 0,02.

*

* *

Nei bambini di Montano Antilia sono stati identificati 27 casi di poliparassitismo, pari al 75,00% dei soggetti parassitati, con presenza da 2 a 5 specie; in quelli di Sanza i casi stessi sono stati 80, pari all'88,89% dei

Tabella 21

Composizione e frequenza delle associazioni parassitarie.

delle specie associate	Protozoi	Elminti	MONTANO n. dei tipi di associazione	MONTANO casi n.	MONTANO casi % sui parassitati	SANZA n. dei tipi di associazione	SANZA casi n.	SANZA casi % sui parassitati
6	4	2	—	—	—	1	1	1,11
5	3	2	1	1	2,78	2	2	2,22
4	3	1	—	—		1	1	
	2	2	1	1	5,56	3	8	13,33
	1	3	1	1		3	3	
3	2	1	1	1		3	3	
	1	2	5	8	30,56	5	17	24,44
	—	3	1	2		2	2	
2	2	—	—	—		1	1	
	1	1	5	6	36,11	4	31	47,78
	—	2	1	7		1	11	
Totale			16	22	75,00	26	80	88,89

soggetti parassitati, con presenza da 2 a 6 specie. In Tabella 21 è riportata la composizione, con ripartizione in Protozoi ed Elminti, delle associazioni parassitarie nei due campioni, con il relativo numero dei casi e le percentuali di frequenza sui soggetti parassitati.

Conclusioni

Dal complesso dei risultati sopra riportati possono essere tratte le seguenti conclusioni.

1) Tutta la zona in studio presenta un grado di diffusione della ossiuriasi abbastanza elevato; la diffusione stessa non è però uniforme in tutti i centri, a Laurito e Montano Antilia essendo più alta. Non si notano per tale parassitosi differenze tra i due sessi; viene invece ancora confermata l'influenza dell'età dei soggetti sulla frequenza di essa, in quanto risultano maggiormente colpite le età più avanzate.

2) Il parassitismo intestinale risulta pressoché generalizzato in tutta la zona. Grandissima è la frequenza del poliparassitismo, anche sostenuto da un numero abbastanza elevato di specie.

3) E' stata complessivamente accertata la presenza di 13 specie, ma solo un piccolo numero di esse è responsabile della maggior parte dei casi di parassitismo, e cioè *E. coli* e *G. intestinalis* tra i Protozoi e *A. lumbricoides* e *T.trichiura* tra gli Elminti. Abbastanza diffuse sono anche *E. nana* e *H.nana;* tutte le altre specie sono invece scarsamente rappresentate o addirittura rare.

4) Nei confronti di Alfano, Laurito e Montano:

a) per il complesso della popolazione, non si rilevano tra i due sessi differenze né nella diffusione del parassitismo in generale né riguardo alle singole specie; l'unica eccezione è presentata da *E. histolytica* che appare più frequente nelle femmine;

b) sempre in base ai dati globali, l'età sembra esercitare la sua influenza sia nei confronti della diffusione del parassitismo in generale, per il quale si ha la massima frequenza nella classe di 7-9 anni, sia in quelli di alcune specie: appare per esempio accertata una maggior diffusione di *E. coli* ed *E.nana* nelle età più avanzate, e di *G. intestinalis* nelle più giovani; sembra anche porsi in evidenza, con il progredire dell'età, una tendenza a una maggiore frequenza di *E. histolytica* e *J. bütschlii,* e a una minore frequenza di *H.nana;*

c) la diffusione del parassitismo in generale, pur essendo sempre elevatissima, non è uguale nelle tre località. Ancora più diversa risulta tra queste la diffusione di quasi tutte le specie più rappresentate; le divergenze più accentuate si verificano per *E.coli.* Laurito è la località che più si differenzia dalle altre due, divergendo ora dall'una, ora dall'altra, ora da ambedue. Nell'ambito di ogni centro si rilevano anche alcune diverse distribuzioni, del parassitismo in generale e delle singole specie, per sesso e per classi di età;

d) nella popolazione totale esaminata il numero delle specie *pro capite* è pari a 2,44, con rapporto tra Protozoi ed Elminti di circa 1 : 4. Le singole località presentano indici pressoché uguali, ma con variato rapporto tra Protozoi ed Elminti. L'incidenza dei Protozoi risulta più alta nelle femmine, e tende a crescere con il progredire dell'età;

e) il poliparassitismo in genere si presenta pressoché ugualmente diffuso in tutte e tre le località, né mostra differenze per sesso e per classi di età; le sue forme più complesse, quelle sostenute da 4-7 specie, risultano però maggiormente frequenti nella classe di età più avanzata.

5) Per quanto riguarda Montano Antilia e Sanza, da quanto si può indurre dai campioni presi in esame, nei confronti della diffusione delle singole specie, la prima località sembrerebbe differenziarsi da tutte le altre della zona per suoi caratteri particolari. Sanza appare invece presentare caratteristiche assai simili a quelle di Rofrano.

RINGRAZIAMENTI: Desidero rinnovare i miei ringraziamenti: al Prof. S. Visco, Direttore dell'Istituto Nazionale della Nutrizione del C.N.R., per aver messo a mia disposizione i locali ed il personale del Centro Studi di Rofrano per l'esecuzione delle ricerche; le Autorità scolastiche e gli Insegnanti di Alfano, di Laurito e soprattutto di Rofrano per l'ampio spirito di collaborazione dimostrato nel favorire la raccolta dei dati; il Dott. Ferrara, capo dell'U.P.A.I. di Salerno, le Dirigenti e le Assistenti del Soggiorno-Vacanza A.A.I. di Cava dei Tirreni per il 1958 ed il 1960, per tutti gli aiuti elargitimi nel corso delle ricerche espletate in tale località; il Sig. E. Pierdominici dell'Istituto Superiore di Sanità, per la preziosa collaborazione nella esecuzione tecnica delle ricerche.

CHILDREN'S INTESTINAL PARASITISM IN A « DEPRESSED AREA »

The survey was carried out in five localities, chosen in the province of Salerno by the National Institute of Nutrition as « demonstration area » for research on alimentary conditions.

A first screening with the scotch cellophane tape (Graham's method) on 361 children of the whole area showed a relatively high diffusion of *E. vermicularis* and a probably high incidence of *A. lumbricoides* and *T. trichiura*.

Subsequent studies were performed on the whole population of elementary school of Alfano, Laurito and Rofrano (674 children, from 6 to 12 years of age, of both sexes), and on a sample group (129 male children, from 6 to 10 years of age) of Montano Antilia and Sanza. The scotch cellophane tape was used in all individuals, and the feces were examined in 734 out of them.

In the group of Alfano, Laurito and Rofrano results were as follows:

1) Incidence of enterobiasis was 53,56%; both sexes were equally parasitized; differences were found, however, in connection with age. The diffusion was different in the various localities: higher at Laurito and lesser at Rofrano.

2) Stool examination showed that 97,03% of the children were infected; the parasitic incidence was the same in both sexes, but different in connection with age and localities.

3) 12 species of parasites were found. Their distribution and incidence varied according to the age group and localities.

4) Mean number of species found, *pro capite*, was 2,44; the rate between Protozoa and Helminths was about 1:4. This rate showed variations according to the locality, the sex and the age.

5) Polyparasitism was found in 86,05% of the parasitized individuals; the number of species varied from 2 to 7. No relation was found between its incidence and the locality, sex and age. Polyparasitism of 4 to 7 species was more frequent among older children.

In the group of Montano Antilia and Sanza results were as follows:

1) Enterobiasis seemed equally distributed in Montano Antilia as in Laurito, and in Sanza as in Rofrano.

2) The species found in the stools were 11; their incidence in Sanza, as compared with that found in male children of the same age of the other localities, seemed very similar to that of Rofrano; while in Montano Antilia was different.

3) Polyparasitism was found in 83,89% of the parasitized individuals of Sanza, and in 75,00% of Montano Antilia; the number of species varied from 2 to 6 in the first locality, and from 2 to 5 in the second one.

BIBLIOGRAFIA

1) RICCI M., CRESTA M. (1960): Ricerche sull'accrescimento infantile, in relazione al parassitismo intestinale, nel Comune di Rofrano (Salerno). *Riv. di Parass., XXI*, 199-216.
2) RICCI M. (1960): Notizie sul parassitismo intestinale nella popolazione scolara di Rofrano. *Parassitologia, II*, 283-286.
3) RICCI M. (1953): Contributo alla conoscenza della diffusione delle protozoosi intestinali nell'infanzia in Italia. *Atti VI Congr. Inter.le Microbiologia*, vol. 5, 345-348.
4) RICCI M. (1955): Il parassitismo intestinale nella popolazione infantile di Lampedusa. *Rev. Iber. Parasit., T. extraord.*, 645-651.
5) RICCI M., GAGLIANO E. (1960): Note sull'azione antielmintica della ditiazanina. *Riv. di Parass.*, XXI, 151-154.

RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. XXII - N. 1 - Marzo 1961

CONTRIBUTO ALLA CONOSCENZA DEI SIMULIDI ITALIANI. I. REPERTI IN PROVINCIA DI LATINA (*)

LEO RIVOSECCHI (**)

Sono state stabilite nella provincia di Latina 80 stazioni di raccolta di larve e pupe di Simulidi. Esaminando le pupe provenienti da tale provincia e da poche altre località dei dintorni di Roma, è stato possibile riconoscervi 14 specie e una forma nuova (in corso di studio). E' stata esaminata la concentrazione di H_2S nei focolai larvali di *S. pontinum* Rivosecchi 1960. Le larve di questo simulide si raccolgono sia in sorgenti debolmente sulfuree, sia in corsi d'acqua provenienti da sorgenti fortemente sulfuree nei quali la concentrazione di H_2S si sia ridotta ad almeno 3,3 mg/l. Tra 3,3 e 0,8 mg/l *S. pontinum* è il solo simulide capace di evolversi in acque sulfuree; a 0,5-0,6 mg./l si può trovare associato a *S. mediterraneum* e in acque prive di H_2S a *S. ornatum*.

Dopo la descrizione di *S. pontinum* era necessario un esame più dettagliato del suo habitat larvale. Ma è sembrato che fosse utile fornire anche qualche notizia sull'habitat di tutti gli altri simulidi che avevo raccolto nelle acque correnti dell'Agro Pontino. Tanto più che si trattava di una zona nella quale questi ditteri nematoceri non erano stati raccolti prima di ora.

DESCRIZIONE DELLA ZONA

Nella provincia di Latina (fig. 1) si possono distinguere due zone principali, una a Nord del canale delle Acque Alte che è la prosecuzione della campagna Romana e l'altra a sud comprendente l'agro Pontino propriamente detto, la piana di Fondi e del Garigliano. La prima è costituita da terreni vulcanici (tufi) scarsamente o del tutto impermeabili all'acqua ed è perciò percorsa da un gran numero di piccoli « fossi » con acque permanenti anche se scarse per tutto l'anno. Ne è un tipico esempio il fosso Spaccasassi, così detto perché scavato in roccia vulcanica (tufo litoide) impermeabile. Le acque di questa zona provengono in gran parte dal versante meridionale dei colli Albani e in parte dai monti Lepini. Scendendo al mare senza forti pendenze e aumentando gradualmente di portata confluiscono nel fiume Astura.

Un quadro geologico-idrografico nettamente diverso è quello della seconda zona. Qui le montagne sono tutte calcaree ed assorbono l'acqua piovana che scaturisce in poderose sorgive pedemontane, (in numero notevole sulfuree e termali) da cui originano fiumi e canali che sin dall'origine hanno notevole portata e forte velocità di corrente; velocità che viene mantenuta all'incirca sino al limite della via Appia. A questa zona segue una depressione (fossa pontina) in cui le acque aspirate dalle

(*) Il presente lavoro è stato eseguito presso il « Centro di studio per la lotta contro gli Insetti nocivi » a Latina.

(**) *Istituto Superiore di Sanità, Laboratori di Parassitologia, Roma.*

pompe idrovore sono praticamente immobili. Tra la fossa Pontina e il mare, si ha un leggero sollevamento del terreno (duna quaternaria) con piccolissimi ruscelli temporanei. Le acque piovane assorbite dalle rocce calcaree dei monti Lepini, Aurunci ed Ausoni danno luogo a una serie pressoché ininterrotta di sorgenti pedemontane che va da Ninfa sino al Garigliano.

Naturalmente anche sulle montagne calcaree esistono in primavera (in estate salvo qualche eccezione i letti dei torrenti sono asciutti) delle acque correnti: così nei monti Aurunci si trova il fiume Itri (fig. 1) ricco di acque scroscianti sino a maggio inoltrato. Gli Ausoni non hanno acque superficiali al di sopra di un certo livello (salvo successive ricerche). I più ricchi di acque montane sono indubbiamente i monti Lepini, nei quali si trovano sorgenti permanenti ad una quota vicino ai 1000 metri. Queste piccole sorgive [non censite nel lavoro di Novarese 1934] pos-

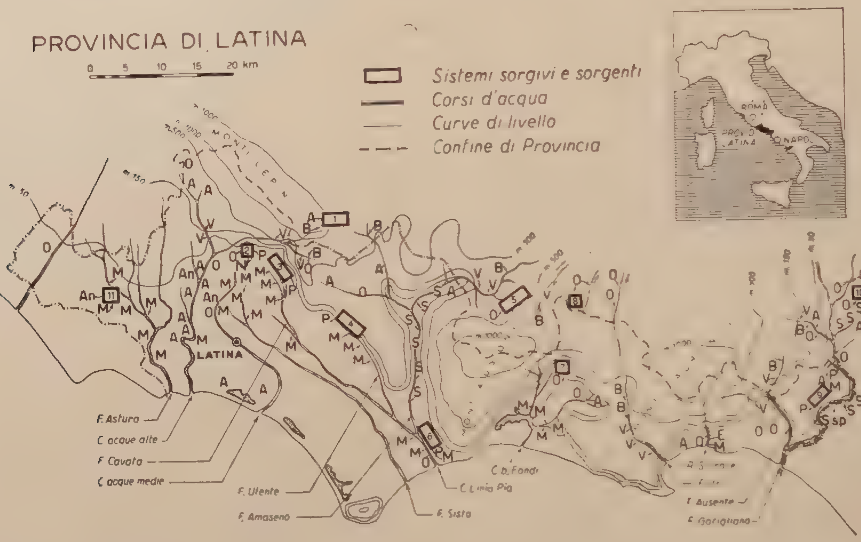

Fig. 1 — Distribuzione delle larve e pupe di simulidi nei corsi d'acqua e nelle sorgenti della provincia di Latina. 1 - sorgente la Fota; 2 - sistema sorgivo di Ninfa; 3 - sistemi sorgivi del Monticchio (in parte sulfureo), Mola dei Preti (sulf.), Mola Petrosanti (sulf.), Fosselloni (sulf.), Acquapuzza (sulf.): 4 - sorgenti dell'Uffente (in parte sulf.); 5 - sorgenti dell'Amaseno in Valle Fratta; 6 - sorgenti mole di Terracina; 7 - sorgente S. Magno, 8 - sorgente le Cavatelle; 9 - sorgenti Puzzilla e la Forma (sulfuree); 10 - sorgente del Peccia; 11 - sorgente Torre del Padiglione. A = *Simulium aureum*, An = *S. angustitarsis*, Au = *S. auricoma*, B = *S. bezzi*, E = *S. equinum*, M = *S. mediterraneum*, N = *S. ornatum var. nitidifrons*, O = *S. ornatum*, P = *S. pontinum*, S = *S. salopiense*, V = *S. variegatum*, S. sp. = nuova forma (affine a *S. reptans*).

sono dar luogo a piccoli corsi d'acqua che però a partire da Maggio-Giugno non riescono a raggiungere la pianura. Tra questi è caratteristico il fosso la Valle (fig. 2) in cui le acque scorrono a quota 150-600 m. su un fondo di arenaria semipermeabile che permette la conservazione delle acque correnti superficiali fino a luglio inoltrato e per un percorso piuttosto lungo; mentre invece le acque sgorganti da altre sorgenti montane (la Fota, la Sambuca e S. Angelo) per quanto con portata superiore, già al principio della estate dopo soli 10-15 m. di scorrimento superficiale scompaiono nelle fessure delle rocce calcaree.

Non solo la costituzione delle rocce su cui scorrono le acque superficiali ma anche la tettonica della regione influisce indirettamente sulla distribuzione dei simulidi, in quanto determina l'abbondanza delle sorgive pedemontane verso la pianura Pontina. La scarsità o quasi totale assenza nel versante interno (valle del fiume Sacco

prov. di Frosinone) deve essere messa in rapporto con l'inclinazione degli strati impermeabili su cui scorrono le acque sotterranee. Le montagne calcaree che si affacciano sulla pianura Pontina sono da considerarsi delle tipiche masse di carreggiamento slittate sopra terreni più recenti e inclinati verso la pianura pontina, da cui ne deriva che tutte le acque piovane assorbite sboccano verso il mare e pochissime verso l'interno. Un importante eccezione a questa regola è costituita dal gruppo di sorgenti della valle Fratta — situata nel versante interno dei monti Aurunci — dalle quali origina un fiume che scorre completamente in prov. di Latina, l'Amaseno, ricco tutto l'anno di acque impetuose e densamente popolato da simulidi. In definitiva in base alle caratteristiche idrografiche si possono distinguere almeno 5 zone nella prov. di Latina (fig. 1):

La prima zona, (Tabella 1) come ho già accennato è quella costituita dai « fossi » provenienti dai colli Albani scorrenti per la massima parte su terreni vulcanici e confluenti nel fiume Astura. A questi corsi d'acqua si possono aggiungere tutte le acque dei monti Lepini che confluiscono nel canale delle Acque Alte (costruito com'è noto per impedire l'afflusso dei torrenti montani nella piana Pontina).

La 2ª zona (Tabella 2) è quella rappresentata dal bacino idrografico del fiume Amaseno nel quale le acque, senza alcuna interruzione durante l'anno, scorrono dalle abbondanti sorgive della valle Fratta lungo la valle dell'Amaseno, alla pianura e quindi al mare.

La 3ª zona, (Tabella 3) indubbiamente la più caratteristica è rappresentata da un gran numero di sorgenti raggrupabili in almeno 7 sistemi sorgivi (cfr. fig 1): Ninfa (n. 2 fig. 1 e fig. 2), Monticchio (n. 3 fig. 1 e figg. 2 e 3), Acquapuzza (fig. 1 e fig. 3), mola Petrosanti (fig. 2), sorgive dell'Uffente (fig. 1 n. 4), mole di Terracina (fig. 1 n. 6), sorgive della piana di Fondi (fig. 1 n. 7). Da questi sistemi sorgivi originano rispettivamente i seguenti corsi d'acqua: da Ninfa, il fiume Ninfa, Sisto e il canale delle Acque Medie, dal Monticchio il fosso Padoni, da Acquapuzza il fiume Coperto (entrambi confluenti nel fiume Cavata), da mola Petrosanti e Fosselloni il Cavatella, da una numerosa catena di sorgive l'Uffente, dalle mole di Terracina e sorgive precedenti un canale confluente nel f. Portatore, da varie sorgive della piana di Fondi diversi canali di bonifica (Tabella 4 zona 1).

Una 4ª zona è costituta dalla fossa Pontina e dalla duna quaternaria e si contrappone nettamente alla precedente per povertà di acque o per la grande lentezza con cui queste scorrono nei canali o nei fiumi (fiume Sisto, canale Linia Pia, canale della Selcella ecc.).

Una 5ª zona (Tabella 4, zona II e III) è infine rappresentata dall'area compresa tra Formia e il Garigliano ed è difficilmente definibile, in quanto ha sorgive pedemontane, montane, torrenti, sorgive sulfuree e termali e un grande fiume il Garigliano con vari affluenti.

Le caratteristiche delle acque di queste zone sono riportate in 4 tabelle e si riferiscono alle stazioni ove è stata riscontrata la presenza di focolai larvali di simulidi.

CLASSIFICAZIONE DELLE PUPE E SCELTA DELLE STAZIONI DI RACCOLTA

Come è noto i simulidi si possono classificare servendosi dei caratteri riscontrabili allo stadio di pupa. In base alle chiavi analitiche contenute nei lavori di Grenier 1953 e di Smart 1944 si possono distinguere circa 20 specie, principalmente in base al numero delle ramificazioni delle branchie cuticolari. In taluni casi però (pupe con 10 ramificazioni) tali chiavi analitiche sono insufficienti.

Poiché lo scopo di questo lavoro è essenzialmente di definire meglio l'habitat larvale di *S.pontinum* e i suoi rapporti con le altre specie, non ho ritenuto necessario per il momento esaminare i caratteri morfologici degli adulti sfarfallati (374 ex) dalle pupe. Quando nelle tabelle si indica *S.aureum o S.ornatum* ci si riferisce a caratteri riscontrati nelle pupe non

TABELLA 1

I Simulidi raccolti nei corsi d'acqua nella zona compresa tra i monti Lepini e le foci del fiume Astura e del canale delle « acque alte ». (Apr.-Lug. 1959 e Ott.-Giug. 1960).

Tipo di corso d'acqua, nome e zona di raccolta	Altimetria di una o più stazioni m. sul livello del mare	Velocità di corrente (1)	profondità (2)	torbidità (3)	supporto (4)	abbondanza del focolaio (5)	Forma principale, forme associate e loro n. in collezione P = pupe, a = adulti ex pupa, L = larve
Fosso « grande » (Aprilia)	70	++	+	T	R	+	*S. ornatum* (1P - 1a)
Fosso « Spaccasassi » (Cisterna) .	60	+++	+	C	R	+++	*S. mediterraneum* (60P)
Fosso « La Teppia » (Cori)	120-200	+++	++	C	R	++	*S. bezzii* (15P) *S. ornatum* (13P) *S. varieg.* (3P 1a)
piccoli ruscelli nei dintorni di Cori	300	++	+	T	R-E	+	*S. aureum* (2P) *S. orn.* (3P)
Fosso « femmina morta »	52	++	++	T	E	+	*S. variegatum* (1P) *S. ornatum* (2P)
Fosso « S. Maria »	50	+++	++	C	E	+++	*S. mediterraneum* (9a, 9P)
Fosso « Torre padiglione » . . .	48	+++	++	C	E	+++	*S. medit.* (2a, 2P) *S. ornatum* (4a, 4P)
Sorgente « Torre padiglione » . .	48	+	++	C	E	++	*S. angustitarsis* (5a, 10L, 5P)
Fiume « Astura » alle Ferriere . .	25	+++	+++	T +	R-E	++	*S. mediterraneum* (3a, 8P, 4L)
Fiume « Astura » al Casale S. Antonio	25	+++	+++	C	E	+	*S. mediterraneum* (1a)
Fiume Astura ad « Acciarella » . .	15	+++	+++	C	E	+	*S. mediterraneum* (3a)
Sorgente « Sambuca »	1310						Assenza Simulidi
Sorgente « La fota »	664	++	+	C	R	+++	*S. bezzii* (24P, 22a) *S. aureum* (7P, 5a)
Fosso « La valle »	200-400	++	+	C	R	+++	*S. bezzii* (30P) *S. orn.* (43P) *S. aureum* (2P)
Canale delle « acque alte » al ponte « Vado la mola »	140	+++	++	C	R	+++	*S. variegatum* (50P, 10a)
C. « acque alte » alla strada di Cori	56	++	++	T	R	+	*S. aureum* (1P) *S. ornatum* (1P).
C. « acque alte » alla strada di Ninfa	51	+	+	C	E	+	*S. aureum* (2P, 3a) *S. medit.* (2P, 1a)
C. « acque alte » alla via Appia . .	50	+++	+	C	E	++	*S. aureum* (2P, 3a) *S. medit.* (1P, 9a)
C. « acque alte » a « Borgo Podgora »	29	++	++	C	E	+++	*S. mediterraneum* (2a, 7P)

(1) Corrente rapida = +++, corrente lenta = ++, corrente molto lenta = +

(2) Profondità superiore a due metri = +++, profondità di 1 m. = ++, profondità pochi cm. = +

(3) Acque torbide = T, acque chiare = C

(4) Erbe = E, rocce = R

(5) Focolaio abbondantissimo = +++, focolaio abbondante = ++, focolaio scarso = +

negli adulti. Se queste diagnosi dovranno essere modificate con l'esame degli adulti ne darò notizia in un successivo lavoro.

Per maggiore precisione riporto brevemente i caratteri in base ai quali sono state fatte le diagnosi delle pupe raccolte.

— Branchie con 4 ramificazioni e bozzolo con una grande sporgenza dorsale: *S. latipes (sensu lato)*.
— Branchie con 4 ramificazioni e bozzolo senza sporgenza dorsale: *S. aureum (s. l.)*
— Branchie con 4 ramificazioni e bozzolo con una piccola sporgenza dorsale: *S. angustitarsis* Lund.
— Branchie con 6 ramificazioni e ninfe con « patagia »: *S. variegatum* Meig.
— Branchie con 6 ramificazioni, ninfe senza « patagia » e bozzolo con aperture laterali: *S. bezzii* Corti
— Branchie con 6 ramificazioni non sporgenti al di fuori del bozzolo: *S. auricoma* Meig.
— Branchie con 6 ramificazioni di cui una molto sviluppata: *S. monticola* Fried.
— Branchie con 8 ramificazioni e bozzolo senza aperture laterali: *S. ornatum (s. l.)*.
— Branchie con 8 ramificazioni e bozzolo con aperture laterali: *S. reptans (s. l.)*.
— Branchie con 8 ramificazioni completamente sessili: *S. ornatum var. nitidifrons* Edw.
— Branchie con ramificazioni fogliacee uniformi: *S. equinum (s. l.)*.
— Branchie con ramificazioni fogliacee, ma con i rami centrali più assottigliati: *S. salopiense (s. l.)*.
— Branchie con due sole ramificazioni fogliacee e le altre cilindriche accartocciate alla base: *S. mediterraneum (Puri)*.
— Branchie con 10 ramificazioni di lunghezza uguale e bozzolo senza aperture laterali o con aperture aperture molto piccole: *S. pontinum* Rivosecchi.
— Branchie con 10 ramificazioni di lunghezza disuguale (fig. 7) e bozzolo con ampie aperture laterali: *Simulium sp.* (nuova forma in corso di descrizione, affine a *S. reptans)*.

Durante gli anni 1959 e 1960 ho esaminato pressoché tutti i corsi di acqua della provincia (*), stabilendo circa 80 stazioni di raccolta scaglionate lungo i principali fiumi e canali a partire dalle sorgenti (o dal confine di provincia) sino al mare (fig. 1). Per le sorgenti mi sono servito dei lavori editi a cura del « servizio idrografico dello Stato » da Novarese 1934 e Guidotti 1942 sull'Agro Pontino e piana di Fondi e sulla Campania (zona di Formia). Il numero delle località visitate è stato perciò molto più numeroso di quello indicato dalle stazioni. Molte sorgive infatti erano sterili e per non ingombrare le tabelle non sono state riportate. Tuttavia non posso asserire di aver visitato tutte le sorgive della provincia, specie le piccole sorgentine a quota 1000.

Nelle tabelle viene riportata di ciascuna stazione o gruppo di stazioni l'altitudine, la velocità di corrente (**), la profondità del corso d'acqua, la torbidità delle acque, il supporto su cui erano attaccate le larve e pupe (***). Per dare una idea dell'abbondanza delle specie più importanti ho

---

(*) Per tale esame mi sono servito in parte di mezzi e di personale messi a mia disposizione dal dott. E. Mossa e dal dott. M. Alessandrini che io ringrazio.

(**) Non disponendo dei mezzi necessari per misurare la velocità di corrente questa è stata valutata solo approssimativamente.

(***) La scelta dei dati ambientali utili a delineare l'habitat larvale è stata fatta prendendo a modello le tabelle di varii lavori ecologici sui simulidi e in particolare quelli dei seguenti A.A.: Peterson 1956, Peterson 1959, Davies and Syme 1958, Hocking and Richards 1953, Sommerman 1955, Doby e Dubois 1955, Doby e David 1959

distinto i focolai larvali in 3 gruppi: 1) focolai con pochissime larve (meno di 10 es. fra le larve e pupe); 2) focolai con un numero non calcolabile di larve; 3) focolai che rappresentano una via di mezzo tra questi estremi (da 10 a 50 tra larve e pupe). Ho pure indicato nelle tabelle il numero di larve e ninfe messe in collezione e gli adulti sfarfallati. Questi numeri però non indicano quasi mai la effettiva abbondanza di un focolaio, perché

TABELLA 2

I Simulidi raccolti nelle acque appartenenti al bacino idrografico del Fiume Amaseno (dall'Ottobre 1959 al Giugno 1960).

Tipo di corso d'acqua, nome e zona di raccolta	Altimetria di una o più stazioni m. sul livello del mare	Velocità di corrente (1) rapida lenta molto lenta	profondità (2)	torbidità (3)	supporto (4)	abbondanza del focolaio (5)	Forma principale, forme associate e loro n. in collezione P = pupe, a = adulti ex pupa
Fosso della valle Ciropano	307	++	+	T	R	++	*S. ornatum* (15P)
Fosso S. Angelo (a Maenza)	200	++	+	C	R	+	*S. ornatum* (1P)
Fosso S. Angelo (conf. Provincia) .	400	+++	+	C	R	+	*S. bezzii* (3P)
Torrente valle Fratta Km. 17 . . .	150	+++	++	C	R	++	*S. ornatum* (6P), *S. bezzii* (3P)
Torrente valle Fratta (Km. 15) . .	110	+++	++	C	R-E	++	*S. ornatum* (30P), *S. varieg.* (1P)
Torrente valle Fratta (ponte San Marco)	100	++	++	C	R	++	*S. orn.* (7a, 7P), *S. bezzii* (3a, 3P), *S. aureum* (2P)
Sorgente « Fontana grande »	89	+++	++	C	E	+++	*S. ornatum* (20P, 20a)
Fiume Amaseno (Pisterzo) . . .	49	+++	+++	T	R	+++	*S. salopiense* (6P)
Fiume Amaseno (Prossedi) . . .	40	+++	+++	T	R	++	*S. salopiense* (15P)
Fiume Amaseno (Rocca secca dei Volsci)	33	+++	+++	T	R	+	*S. salop.* (10P), *S. mediterraneum* (1P)
Fiume Amaseno (Fossanova) . .	17	+++	+++	T	R-E	++	*S. salopiense* (1a, 3P)
Fosso « Roccagorga » (confluenza Amaseno) . . .	31	++	+	C	E	++	*S. ornatum* (3P), *S. salopiense* (2P)
Piccoli ruscelli al Ponte di « Prossedi » sull'Amaseno	48	+	+	T	R-E	+	*S. ornatum* (2P), *S. aureum* (2a, 3P)
Fiume Amaseno alla confluenza con la « Linia Pia » .	3	+++	+++	C	R	+++	*S. mediterraneum* (10P)

(1) Corrente rapida = +++, corrente lenta = ++, corrente molto lenta = +
(2) Profondità superiore a due metri = +++, profondità di 1 m. = ++, profondità pochi cm. = +
(3) Acque torbide = T, acque chiare = C
(4) Erbe = E, rocce = R
(5) Focolaio abbondantissimo = +++, focolaio abbondante = ++, focolaio scarso = +

I Simulìdi raccolti nelle sorgenti pedemontane e nelle acque correnti della pianura Pontina (dal Marzo 1959 al Giugno 1960).

Tipo di corso d'acqua, nome e zona di raccolta	Altimetria di una o più stazioni m. sul livello del mare	Velocità di corrente (1)	profondità (2)	torbidità (3)	supporto (4)	abbondanza del focolaio (5)	Forma principale, forme associate e loro n. in collezione P = pupe, a = adulti ex pupa
Sorgenti di Ninfa	29	+++	++	C	E	+++	*S. ornatum* (160P, 45a), *S. o. nitidifrons* (4P, 4a), *S. pont.* (36P, 9a), *S. mediterraneum* (1P, 1a)
Canale « acque medie » ponte della ferrovia	25	+++	+++	C	E	+++	*S. mediterraneum* (12P)
Canale « acque medie » ponte Via Appia	20	+++	+++	C	E	++	*S. mediterraneum* (3P)
Canale « acque medie » chies. Piscinara	16	+++	+++	C	E	+	*S. medit.* (3P), *S. ornatum* (1P)
Piccoli fossetti di irrigazione lungo la V. Appia . .	20	+	+	T	E	+	*S. ornat.* (2P), *S. angustitarsis* (1P)
Sorgente « Mola dei Preti »	17	+++	++	O	E-R	+	*S. pontinum* (3P)
Sorgente « Mola di Monticchio » . .	28	+++	+++	C	E	+++	*S. pontinum* (5P)
Fosso Padoni . .	13,5	++	+++	C	E	+++	*S. mediterraneum* (60P, 60a)
Sorgente « Mola Petrosanti » . . .	14,5	+	+++	T	E	++	*S. pontinum* (4P)
Sorgente « Acquapuzza »	12,5	+++	++	O	E-R	+++	*S. pontinum* (200P, 300L, 100a)
Fosso Coperto . .	13	+++	++	C	E	+++	*S. pont.* (10P), *S. mediterraneum* (4P)
Fiume cavata . .	10	+++	+++	C	E	+++	*S. mediterraneum* (10P)
Sorgente « Mola dei muti »	7,4	+++	+	C	R	+	*S. pontinum* (2P, 3L)
Sorgente «Scafa rapini»	4	++	+	C	R	+	*S. pontinum* (1P, 2L)
Sorgente «Casenuonuove »	4	++	+	C	R	+	*S. pontinum* (3P, 2L)
Fiume Uffente . .	3	+++	+++	C	E	+++	*S. mediterraneum* (30P, 10a)
Sorgente « Fontana del muro » . . .	3	+++	+++	C	E	+++	*S. ornatum* (10P, 8a)
Sorgente « Mola I di Terracina » . .	1	+++	++	C	E	++	*S. pontinum* (2P, 5L), *S. medit.* (1P)
Canale «Linia Pia» confluenza del Cavata (Borgo Faiti)	6	+++	+++	C	E	+++	*S. mediterraneum* (6P)
Fosso Capo d'Onno (Parco Nazionale Circeo)	29	++	+	T	E	++	*S. ornatum* (10P)
Ruscelletti intorno al Lago di Fogliano	7	+	+	T	E	++	*S. aureum* 21P)

(1) Corrente rapida = +++, corrente lenta = ++, corrente molto lenta = +
(2) Profondità superiore a due metri = +++, profondita di 1 m. = ++, profondità pochi cm. = +
(3) Acque torbide = T, acque chiare = C, acque opelescenti = O
(4) Erbe = E, rocce = R
(5) Focolaio abbondantissimo = +++, focolaio abbondante = ++, focolaio scarso = +

Tabella 4

Pupe e larve di Simulidi raccolte nei Monti Ausoni ed Aurunci e nelle pianure di Fondi e del Garigliano (Ottobre 1959 - Giugno 1960).

Tipo di corso d'acqua, nome e zona di raccolta	Altimetria di una o più stazioni m. sul livello del mare	Velocità di corrente (1)	profondità (2)	torbidità (3)	supporto (4)	abbondanza del focolaio (5)	Forma principale, forme associate e loro n. in collezione P = pupe, a = adulti ex pupa, L = larve
Zona I: I monti Ausoni e la Pianura di Fondi							
Sorgente S. Magno	25	++	+	C	E	+	*S. ornatum* (1P, 3a)
Piccoli ruscelli « Valle S. Andrea	20-30		+	C	E-R	+	*S. ornatum* (3P), *S. aureum* (3P)
Canale Vetere . .	6	+++	+++	C	R	+++	*S. mediterraneum* (10)
Canale Baratta . .	4	+++	+++	C	R	+++	*S. mediterraneum* (6a, 15P)
Fiume Itri (tra Itri e Formia . . .	150	+++	++	C	R	+++	*S. variegatum* (7P)
Fiume Itri (nella città)	222	+++	++	T	R	+	*S. variegatum* (1P)
Fiume Itri alla sorgente	300	+++	+	C	R	+++	*S. bezzii* (6a, 7P), *S. var.* (5a, 8P)
Torrente «S. Oliva» (affluente del F. Liri)	300	++	+	T	R	++	*S. ornatum* (2a, 3P), *S. aureum* (3P)
Sorgente « di Pastena »	201	+++	+	C	R	+	*S. ornatum* (5a, 6P), *S. aureum* (3P)
Fosso « Le Cavallette » (Affluente del F. Sacco) . .	230	++	+	T	E	+	*S. ornatum* (5a, 6P)
Fosso «acqua Bianca» (Affluente del F. Sacco) . . .	295	+++	+	C	R	+	*S. variegatum* (3P)
Zona II: Corsi d'acqua compresi tra Formia e la foce del Garigliano							
Sorgente « Campese »	11	+++	+	T	R	++	*S. ornatum* (3P)
Fosso S. Croce . .	7	+++	+++	C	E	+	*S. ornatum* (50P) *S. equinum* (1P)
Ruscello « Pantaniello »	10	++	+	C	R	+	*S. ornatum* (2P), *S. aureum* (2P)
Sorgente di Minturno	41	++	+	C	R	+	*S. ornatum* (4P)
Torrente «Ausente»	100	+++	+	C	E	+++	*S. var.* (20P), *S. orn.* (5P), *S. bezzii* (1P)
Torrente « Ausentello »	120	+++	+	C	E	++	*S. varieg.* (8a, 10P), *S. bezzii* (2a, 15P)
Zona III: Corsi d'acqua della Valle del Garigliano fino alla confluenza del F. Pecci							
Sorgente «Pizzella»	40	+++	++	O	E	+++	*S. pontinum* (1P)
Sorgente « La Forma »	38	+++	++	O	E	+++	*S. pontinum* (10P, 100L, 1a)
Fosso « Sprecamugliera »	25	+++	+	C	E	+++	*S. medit.* (15a, 1P), *S. aureum* (4a, 2P), *S. salopiense* (2P), *S. pontinum* (4a, 3P)
Fosso «Acquamara»	25	+	+	C	E	++	*S. ornatum* (2P)
Fosso Pisciarello .	24	+++	+	C	E	++	*S. ornatum* (1P)
Torrente « Cucuruzzo »	50	+++	+	C	R-E	+++	*S. medit.* (20P), *S. salop.* (10, 15P), *S. auricoma* (1P)
Torrente S. Andrea	150	+++	+	C	E	++	*S. salop.* (3P), *S. orn.* (2P), *S. bezzii* (4P), *S. aureum* (3P)
Fiume Peccia (centrale idr.	23	+++	+++	C	E	+++	*S. ornatum* (5P)
Fiume Garigliano (alle rapide della centrale idroelettrica)	12	++	+++	T	E	+++	*S. salopiense* (8a, 9P), *Simulium sp.* (3a, 10P)

(1) Corrente rapida = +++, corrente lenta = ++, corrente molto lenta = +
(2) Profondità superiore a due metri = +++, profondità di 1 m. = ++, profondità pochi cm. = +
(3) Acque torbide = T, acque chiare = C, acque opelescenti = O
(4) Erbe = E, rocce = R
(5) Focolaio abbondantissimo = +++, focolaio abbondante = ++, focolaio scarso = +

spesso accade di vedere un gran numero di larve e pupe ma di non poterne raccogliere molte. Nella condizione di « *specie abbondantissime* » si trovano: *S.mediterraneum* in varie stazioni del canale delle Acque Medie del fiume Cavata, Ninfa e Uffente; *S.salopiense* nella valle dell'Amaseno da Priverno a Prossedi; *S.variegatum* e *S.bezzii* nel fosso la Valle e il fiume Itri da quota 200 in poi, (non oltre la fine di maggio); *S.pontinum* in alcune sorgive sulfuree (sorgente Acquapuzza e fosso Coperto che ne deriva, sorgente mola dei Preti e sorgenti Puzzilla e La Forma nella valle del Garigliano »).

Per ampliare il più possibile in senso faunistico l'interesse di questo lavoro ho aggiunto alcuni dati su raccolte fatte in provincia di Roma riservandomi di completarli successivamente. Dal punto di vista ecologico lo studio più accurato è stato fatto nelle acque sorgive popolate da *S.pontinum* esclusivamente o dove questo simulide è associato ad altre specie. Di queste acque sorgive e di altre sorgive sulfuree prive di simulidi ho determinato, oltre le caratteristiche indicate nelle prime 4 tabelle, anche la quantità di H_2S e O_2 per litro di H_2O. Tutti i dati sono riportati alle tab. 5 e 6. Le misure della quantità di ossigeno è di H_2S delle acque sorgive sono state eseguite in più punti di una stessa sorgente; iniziando dal principio e proseguendo in varii punti scaglionati lungo il corso d'acqua prodotto dalla sorgiva, sino al punto in cui le pupe e le larve di *S.pontinum* si mescolano a *S.mediterraneum* (fig. 2, fig. 3).

Nel mio precedente lavoro (Rivosecchi 1950) su una nuova specie di Simulide dell'agro pontino), si asseriva che tale specie era caratteristica delle acque sulfuree. Senza riportare la quantità di H_2S e O_2 di queste sorgive e si parlava di sorgenti fortemente o debolmente sulfuree basandosi esclusivamente sui caratteri organolettici o su determinazioni fatte molti anni prima da Novarese e Nuccorini 1934 (*).

Nel presente lavoro l'H_2S (mg. per litro di acqua sorgiva) è stato determinato nelle sorgenti della zona di Sermoneta e i risultati esposti alle tabelle 5 e 6.

La determinazione dell'H_2S è stata fatta con il metodo jodometrico (**), e quella dell'ossigeno con il metodo di Winkler.

Non ho ritenuto opportuno invece di esaminare il pH perché esiste un accurato lavoro di Raffaelli 1948 in cui vengono riportati i pH di tutte le acque della provincia di Latina. Quest'A. ha osservato che le acque

(*) In tale lavoro venivano riportate la quantità di H_2S a litro per sole 4 sorgenti sulfuree che avevano rispettivamente 0,04; 0,001; 0,0001; 0,03 grammi di H_2S per litro. Queste sorgenti sono scomparse con i lavori di bonifica.

(**) Tale metodo mi è stato suggerito dal Prof. Visintin del reparto idrologico dell'Istituto Superiore di Sanità che io ringrazio.

delle due zone vulcaniche dell'Agro Pontino (che sono proprio quelle in cui si trovano sorgive sulfuree con *S.pontinum*) hanno un pH compreso tra 6,1 e 6,8.

L'INFLUENZA DELL'ALTITUDINE

Per quanto nella provincia di Latina i focolai positivi siano distribuiti in un ambito altitudinale molto ristretto (dal mare a 646 m.) tuttavia è possibile con l'esame delle tabelle stabilire i seguenti punti in proposito:

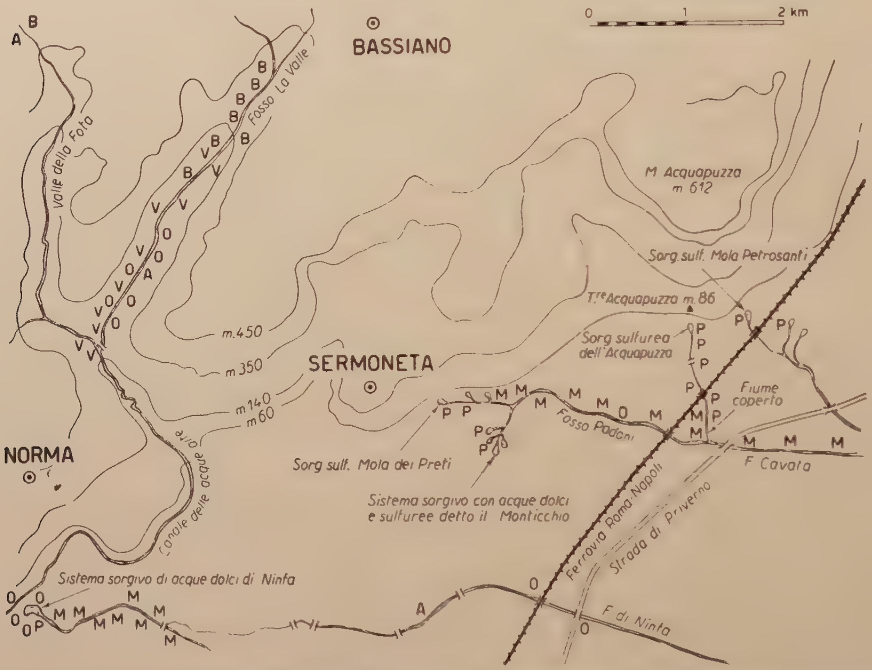

Fig. 2 — Distribuzione delle specie di pianura e montagna nella zona di Sermoneta. B = *S. bezzii*, A = *S. aureum*, M = *S. mediterraneum*, O = *S. ornatum*, P = *S. pontinum*, V = *S. variegatum*. Due specie (*S. variegatum* e *S .bezzii*) si trovano esclusivamente in torrenti di montagna (fosso la Valle e valle la Fota), due specie (*S. mediterraneum* e *S. pontinum*) si sviluppano esclusivamente in pianura. *S. pontinum* è l'unico simulide capace di svilupparsi nelle sorgive sulfuree, mentre nella sorgente non sulfurea di Ninfa è associato a *S. ornatum*. Questa specie e *S. aureum* si raccolgono indifferentemente in pianura e montagna.

1) *S.variegatum* si raccoglie tra 120-300 metri sul livello del mare (*).

2) *S.bezzii* si mantiene generalmente a una quota più elevata, 120-664 m. sul livello del mare (**), (fig. 1 e fig. 2).

(*) Secondo Grenier 1953 i limiti altitudinali di questa specie diffusissima nelle zone montane, sono in Francia 200-1200 talora 140 m. Secondo Doby e Deblock 1957 300-2.100 m. (Pirenei orientali).

(**) Secondo Grenier 1953 i limiti altitudinali sono in Francia 300-2000 m.; secondo Doby e Deblock 1957: 300-2000 m. (Pirenei orientali).

3) Il *S.mediterraneum* non supera mai i 150 m. sul livello del mare ed è una forma molto diffusa nella pianura Pontina. (*) (fig. 1 M e fig. 2).

4) *S.salopiense* è una forma tipica delle vallate interne, si mantiene piuttosto lontana dal mare ad una quota di 150-200 m. (**).

5) Due specie: *S.ornatum* e *S.aureum* si raccolgono indifferentemente in montagna e in pianura. (fig. 1 O, A e fig. 2).

6) Una specie mai raccolta sopra i 50 m. sul livello del mare è *S.angustitarsis*. (***)

7) In un corso d'acqua, dal monte al mare, generalmente si ha la seguente serie: *S.bezzii, S.variegatum, S.salopiense* o *S.mediterraneum*.

8) Una sola specie si può definire *pedemontana* in quanto non si inoltra mai nelle vallate montane e si spinge molto limitatamente verso la pianura. Tale specie è *S. pontinum*. (fig. 1 P, fig. 4).

La distribuzione delle forme di pianura e di montagna è anche in funzione del dislivello, nel senso che ove la pendenza è minore si nota in genere una più facile sovrapposizione tra forme montane e di pianura; così ai margini della valle del Garigliano o nel fosso la Teppia che discende da Cori si possono trovare assieme *S.variegatum* e *S.mediterraneum* i quali invece nell'agro Pontino propriamente detto, non si mescolano mai e ciò perché qui la distinzione tra pianura e montagna è veramente netta (fig. 2 e fig. 3). Qui le forme montane (*S. bezzii* e *S.variegatum*) non scendono mai nella pianura e non si mescolano mai con le forme pedemontane (*S.pontinum*) o di pianura (*S.mediterraneum*).

Questa distribuzione corrisponde a quella che si osserva nella provincia di Roma. Nella pianura della bonifica di Maccarese si raccoglie *S.aureum* e *S.angustitarsis*, nei fossi dei dintorni di Roma *S.mediterraneum*, nel fiume Tevere (a monte della città) *S.salopiense*. *S.variegatum* si comincia a trovare a quota 200 nella valle dell'Aniene, mentre *S.monticola* insieme a *S.bezzii* si trova solo alle sorgenti dell'Aniene a quota 1000-1500.

ALTRI FATTORI CHE POSSONO INFLUIRE SULLA DISTRIBUZIONE DEI SIMULIDI

La velocità di corrente, la profondità, la torbidità delle acque, la temperatura, rappresentano un complesso di fattori ecologici che in un certo senso sono impliciti nella stessa denominazione che si da ad un corso di

---

(*) Secondo Grenier 1953 e 1956 questa specie si raccoglie in Africa del Nord e in Spagna ad una quota piuttosto elevata (800 m.). Secondo Zivkovic 1955 in Macedonia questa è la specie più frequente in piccoli ruscelli a corrente rapida (t. = 14-20C°).

(**) Secondo Grenier 1953 e 1956 in Francia si trova di una altezza inferiore a 500 m. mentre in Spagna arriva anche a 800 m.. Secondo Doby e Deblock 1957 nei Pirenei orientali è una specie di «basse altitudini».

(***) Grenier 1953 la definisce una forma «tipica delle basse altitudini».

acqua: un torrente ha generalmente acque impetuose ed è poco profondo, viceversa un fiume; ma la distinzione tra ruscello, fosso, torrente, fiume non è mai netta, tanto più che ciascun corso d'acqua cambia le sue caratteristiche durante il percorso. Un esempio tipico è dato nella provincia di Latina dall'Amaseno, che inizia da numerose sorgenti, prosegue per un lungo tratto (valle Fratta) come torrente e si ingrossa gradualmente divenendo un vero fiume. Le sorgenti montane della valle Fratta situate alle spalle dei monti Aurunci, per quanto numerose e con acque fresche e limpidissime sono totalmente prive di simulidi, salvo una, la sorgiva Fontana Grande, situata proprio dentro la città di Amaseno e brulicante di una grande quantità di *S.ornatum*. Lungo la valle Fratta invece, nelle rocce del torrente che vi scorre, si raccoglie *S.bezzii* e *S.variegatum;* poi il fondo sassoso scompare, la profondità aumenta, si comincia a formare un vero fiume e sulle erbe delle rive si raccoglie *S.salopiense* (*), che da Prossedi a Priverno, sembra l'unica specie presente. A Priverno il fiume entra nella pianura Pontina ove scorre più lentamente. Qui si comincia a raccogliere *S.mediterraneum* (vedi fig. 1). Un po' diversa è la serie idrografico-faunistica del canale delle Acque Alte nel quale bisogna tenere conto della grande variabilità del regime, cui si accompagna altrettanta variabilità stagionale della fauna dei simulidi. A partire dal mese di aprile, il fosso, la Valle e la valle la Fota (fig. 2) (che rappresentano l'inizio del canale delle Acque Alte) sono ricchissimi di acque scroscianti e impetuose e presentano sui sassi del loro letto torrentizio, in notevole quantità *S.variegatum* e *S.bezzii,* che però non raggiungono mai la sottostante pianura (vedi fig. 2 e fig. 3). Con l'avanzare dell'estate, le acque della valle la Fota si prosciugano completamente e rimane solo la sorgente la Fota, a quota 664, con pochi esemplari di *S.bezzii*. Le acque del fosso la Valle rimangono invece sino ad agosto, ma si riducono ad un piccolo rigagnolo ove l'acqua scorre lentamente e ove si raccoglie *S.ornatum* e *S.aureum*. Poiché in questo periodo le piccole sorgentine montane e quota 1000 (acqua Sambuca e S. Angelo) sono risultate prive di simulidi è probabile che *S.variegatum* e *S.bezzii* si spostino verso l'interno dell'Appennino ove troveranno certamente condizioni favorevoli. Anche il canale delle acque alte che scorre in pianura ha in estate un regime scarsissimo con acqua lentissima e poco profonda ove si raccoglie quasi esclusivamente *S.aureum*.

Nel fiume Cavata, nel canale delle Acque Medie, nel fiume Amaseno e nei canali della piana di Fondi e in varii altri fossi più piccoli *S.mediterraneum* è « abbondantissimo » finché la corrente è piuttosto rapida, non

---

(*) V. Zivkovic (1955-1956-1960) distingue un *S. salopiense* forma *danubiense* che vive solo nei grandi fiumi, mentre il tipico *S. salopiense* è una specie rara in piccoli ruscelli.

inferiore cioè a circa 0,50 cm. sec., ma al di sotto di questo limite le larve cominciano a scarseggiare e si raccolgono in quei punti dove per i lavori di bonifica si sono creati artificialmente dei piccoli dislivelli che fanno aumentare localmente la velocità di corrente (sotto i ponti, nei chiusini, allo sbocco di un fosso in un canale ecc.); diminuendo ancora la velocità di corrente (— di 0,30 cm. sec.) *S.mediterraneum* sparisce totalmente. Ciò si verifica circa all'altezza della via Appia ma in realtà a seconda dei canali o fiumi questa scomparsa può avvenire prima o dopo (fig. 1). Ad es. il canale della Selcella che scorre nella fossa Pontina a monte della via Appia è privo di simulidi avendo acque quasi immobili aspirate dalle idrovore del Mazzocchio. Il grande canale della Linia Pia che fiancheggia la Appia è generalmente privo di simulidi salvo a Borgo Faiti ove il Cavata confluendo nel grande canale crea il movimento di acque sufficiente per lo sviluppo di *S.mediterraneum*. Ma a parte questi focolai isolati dovuti a un movimento di acque creato da opere idrauliche, io credo che in generale la bonifica pontina, non abbia portato delle grandissime modifiche nella fauna dei simulidi. I canali scavati nelle zone un tempo occupate da acque stagnanti hanno in generale un movimento di acque troppo lento per permettere lo sviluppo delle larve dei simulidi le quali sono praticamente concentrate nella zona situata sotto le montagne, come probabilmente avveniva anche prima delle bonifiche. Viceversa nella duna quaternaria, vicina al mare la tesaurizzazione delle acque ha probabilmente ridotto la già scarsa fauna dei simulidi. Intorno al lago costiero di Fogliano (fig. 1), in alcuni prati acquitrinosi, ho trovato alcuni es. di *S.aureum* e *S.angustitarsis*, le cui larve sono capaci di svilupparsi in poca acqua dotata di un movimento appena percettibile. Le stesse specie ho poi ritrovato in analoghe condizioni nella bonifica di Maccarese, in piccoli ruscelletti con acqua lentissima e fangosa. Queste specie, insieme a *S.ornatum*, sono quelle che probabilmente popolavano le paludi e si sono poi adattate ai piccoli canaletti di bonifica con acqua fangosa e appena in movimento.

Nella pianura di Maccarese (prov. di Roma) si ha un fiume, l'Arrone con acque veloci anche in pianura. Questo fiume, che è l'emissario del lago di Bracciano, dal punto in cui esce dal lago sino alla foce presenta la seguente serie di specie: *S.salopiense* (all'inizio), *S.mediterraneum* (verso la metà del percorso) *S.reptans* (dall'inizio della pianura al mare).

Ho esaminato anche il fiume Aniene e il Tevere, ma entrambi hanno probabilmente acque molto inquinate, altrimenti non si spiegherebbe la totale assenza di simulidi a monte e a valle delle note cascate di Tivoli. Comunque ho potuto stabilire due stazioni di raccolta anche in questi due fiumi: una a Castel Giubileo (Tevere) con *S.salopiense*, *S.equinum* e *S.ornatum* e l'altra alle sorgenti dell'Aniene a quota 1000 con *S.monticola*, *S.bezzii* e *S.variegatum*. E' probabile che l'assenza di simulidi in zone favo-

revoli dell'Aniene sia dovuta all'usanza (che data da molti anni) di utilizzare queste acque per una serie di cartiere. Così pure nel canale delle Acque Medie, che attraversa la città di Latina, non si trovano più simulidi nel tratto compreso tra la città e il mare (Rio Martino), nonostante la notevole velocità di corrente di alcuni punti, probabilmente perché le acque vengono inquinate da diverse fabbriche della città.

L'ELENCO DELLE SPECIE RACCOLTE E LE LORO CARATTERISTICHE ECOLOGICHE

Nella provincia di Latina, nei dintorni di Roma e in qualche altra località dell'Italia centrale, ho raccolto sino a questo momento 14 specie (*) una varietà e una forma non classificabile tra le specie note e di cui prossimamente sarà data la descrizione, esse sono:

S.angustitarsis Lund.: prov. di Latina (fig. 1-An) e bonifica di Maccarese (Roma).
S.aureum (*s. l.*): prov. di Latina (fig. 1-A e T-A).
S.auricoma Meig.: prov. di Latina (fig. 1-Au).
S.bezzii Corti: prov. di Latina (fig. 1-B, fig. 2-B e fig. 3).
S.equinum (L.): prov. di Latina (fig. 1-E) e fiume Tevere (Roma).
S.latipes (s. l.): pantano Doganella, m. 600 (Roma).
S.mediterraneum (Puri): prov. di Latina (fig. 1-M, fig. 2-M e fig. 3).
S.monticola Fried.: sorgenti dell'Aniene (Filettino - Roma) m. 1500.
S.ornatum (*s. l.*): prov. di Latina (fig. 1-0, fig. 2-0).
S.ornatum var. *nitidifrons* Edw.: prov. di Latina (fig 1-N) e Anzio (Roma)
S.pontinum Rivosecchi: prov. di Latina (fig. 1-P, fig. 2-P e figg. 4 e 5).
S. reptans L.: fiume Arrone, bonifica di Maccarese (Roma).
Simulium sp. (fig. 6): prov. di Latina (fig. 1-S. sp.).
S.salopiense (*s. l.*): prov. Latina (fig. 1-5).
S.variegatum Meig.: prov. di Latina (fig. 1-V, fig. 2-V).

(*) Grenier 1953 nella sola fauna di Francia ricorda tra specie e varietà 28 differenti forme di Simulidi, ma aggiungendovi recenti scoperte (Doby e David 1959 e 1960) le specie francesi superano la trentina. Smart 1944 per l'Inghilterra cita 19 specie e varietà. In Spagna il numero delle forme note è circa 20 (Grenier e Bertrand 1956). In Cecoslovacchia Novak 1956, 1957, 1959 ha trovato 23 specie. In Jugoslavia V. Zivkovic e coll. (1955-1956-1957-1958-1959-1960) ha trovato 31 forme (comunicazione pers. dell. A.). In Polonia in un lavoro faunistico limitato alla sola regione di Lublino (Zwloski 1958) vengono citate 17 specie e due varietà. Sul numero di specie che si possono trovare non influisce soltanto la varietà degli ambienti presi in esame ma anche la vastità dell'area geografica considerata. Le 14 forme della prov. Latina salgono a 15 aggiungendovi poche raccolte dei dintorni di Roma.

Corti 1914 nell'Italia del Nord aveva raccolto 9 diverse specie di simulidi, tra le quali però si trovano 3 specie che io non sono stato capace di ritrovare: *S. maculatam* Meig. *S. argenteostriatum* Strobl. e *Prosimulium hirtipes* Fries (raccolto nelle Marche M. Sibillini dal Prof. Bezzi). Anche per la fauna italiana ci si avvicina quindi al consueto numero di circa 20 specie. Penso però che con successive ricerche tale numero possa essere ulteriormente aumentato.

Queste specie in base alle loro caratteristiche ecologiche possono essere suddivise nei seguenti gruppi:

1) *Specie dei corsi d'acqua più grandi* (fiumi o canali).

Sono *S.salopiense*, *S.equinum* e in parte anche *S.mediterraneum*, che però si trova prevalentemente in fossi con portata e profondità minore. Il tipico *S.equinum* è nell'area studiata una specie molto rara (associata come specie accompagnatrice a *S.salopiense* o *S.ornatum*). *S.mediterraneum* e *S.salopiense* sono invece abbondantissimi (*) e rimangono generalmente ben separati da un certo limite altimetrico o semplicemente da una certa distanza dal mare. *S.salopiense* è la specie dominante dei corsi d'acqua

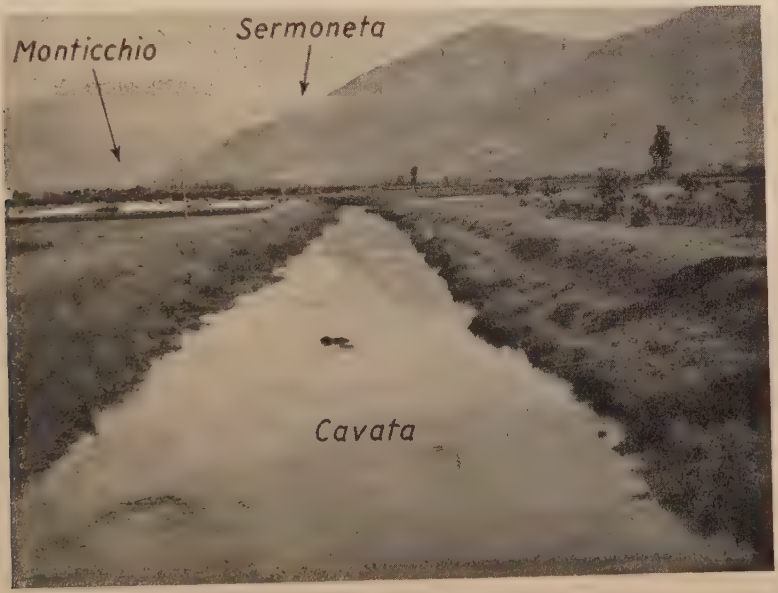

Fig. 3 — Paesaggio e distribuzione dei simulidi nella zona di Sermoneta. Nelle montagne dietro la città di Sermoneta si raccoglie *S. variegatum* e *S. bezzii*, nelle sorgenti sulfuree ai piedi delle montagne (sorg. del Monticchio, sorg. mola dei Preti, sorg. Acquapuzza) si trova esclusivamente *S. pontinum*, nel fiume Cavata che raccoglie le acque di queste sorgenti si trova *S. mediterraneum* solo o associato a *S. pontinum*.

di maggiore portata (Amaseno, Garigliano, Liri, Sacco, Tevere fig. 1). *S.mediterraneum* è la specie dominante dei corsi d'acqua più piccoli che scorrono nella pianura Pontina e di Fondi, con acque generalmente meno veloci di quelle frequentate dalle larve di *S.salopiense*. Tuttavia le due specie possono in alcuni punti sovrapporsi (Priverno, Ponte Galeria, e varii affluenti del Garigliano).

2) *Specie dei torrenti e ruscelli di montagna.*

Sono *S.variegatum*, *S.bezzii* e *S.monticola* che si trovano talora asso-

(*) Fatti analoghi sono stati da tempo osservati da V. Zivkovic (1955-1960) in Jugoslavia. Solo che la specie dei grandi fiumi sarebbe una forma diversa *(danubiense)* dal tipico *S. Salopiense* Ed.

ciate. *S.monticola* ha comunque un limite altimetrico superiore alle altre due specie. (Alta valle dell'Aniene m. 1500-2000). Va notato inoltre che *S.variegatum* e *S.bezzii*, anche quando si trovano nella stessa stazione di raccolta in torrenti di montagna (fiume Itri e alta Valle Fratta fig. 1), non sono completamente mescolati, in quanto *S.variegatum* tende ad occupare i punti in cui l'acqua è più profonda mentre *S.bezzii* si trova in punti meno profondi e con minore velocità di corrente. Questa specie sembra che si adatti a ruscelli di montagna con scarsa quantità d'acqua. Forse questo è il motivo per cui nei monti Lepini al di sopra di una certa quota (m. 400), alla quale l'acqua comincia a scarseggiare, diviene praticamente la specie dominante, associandosi frequentemente a *S.ornatum* e *S.aureum*. Come ho detto, è difficile stabilire i limiti altimetrici di queste due specie a causa dei loro spostamenti stagionali, è certo comunque che in marzo-aprile si trovano sui monti Lepini e Ausoni a quota 150-200, ai margini delle pianure costiere, (in questo periodo le montagne più alte sono ancora coperte di neve) poi in estate-autunno si trovano a m. 1000-2000 (nello stesso periodo i monti Lepini, Aurunci, Ausoni rimangono completamente privi di acque superficiali).

3) *Specie delle sorgenti pedemontane e in particolare di quelle sulfuree.*

Sono *S.ornatum*, *S.ornatum* var. *nitidifrons*, *S.pontinum*. Quest'ultimo non si raccoglie mai nei fiumi e canali della piana Pontina e neppure nei torrenti o ruscelli di montagna. E' assente anche dalle sorgenti montane, si inoltra solo per brevissimi tratti in qualche fosso della piana Pontina ove è subito sostituito da *S.mediterraneum* (fig. 1 e fig. 2). Si sviluppa il più delle volte ove l'acqua è scrosciante (fig. 4) ma talora anche dove è lentissima. La profondità delle acque frequentate dalle larve è generalmente scarsa e non supera il metro (fosso Coperto). L'acqua può essere fresca e chiara (Ninfa) o torbida e terrosa (mola Petrosanti) ma generalmente opalescente e sulfurea. La temperatura compresa tra 13°-19°C. Il supporto delle larve è costituito indifferentemente da erbe o sassi. La massima abbondanza si riscontra nelle sorgenti sulfuree con concentrazione di H_2S compresa tra 3,3--0,8 mg./lit. e ossigeno 3,1-4,6 mg./lit., le quali non consentono lo sviluppo di alcun altra specie di simulide.

4) *Specie dei piccoli ruscelli con lenta o lentissima velocità di corrente.*

Sono *S.aureum*, *S.angustitarsis* e *S.latipes*. Di quest'ultimo ho potuto stabilire una sola stazione nei colli Albani (m. 600), ove però si trovava in notevole quantità, in una sorta di palude « sorgiva » (pantano Doganella) con lentissimo movimento di acque. Di *S.angustitarsis* ho invece stabilito numerose stazioni nella bonifica di Maccarese e nell'agro Pontino, ove però non è mai molto frequente, ma si trova sparso qua e là in piccoli

ruscelli, tra i quali sembra preferire quelli con acque non eccessivamente torbide.

Quanto a *S.aureum* esso occupa tutti i piccoli ruscelli di pianura o di montagna con acque sia chiare che molto torbide (pianura di Maccarese e dintorni del lago di Fogliano) e con velocità di corrente generalmente lenta ma talvolta, specie in montagna, anche piuttosto forte.

Fig. 4 — La sorgente sulfurea detta mola dei Preti. Le acque sboccano da una grotta e sono fortemente sulfuree (5 mg. di H_2S a litro, colore opalescente, fortissimo odore di H_2S) si rompono tra le rocce (in basso a destra) e ricoprono i sassi su cui scorrono, di uno strato sulfureo bianco; in tal modo la conc. di H_2S si riduce rapidamente (circa 3 mg. di H_2S a litro), sicché tra le erbe che si vedono in alto a sinistra si può sviluppare qualche larva di *S. pontinum*.

5) *Specie di ruscelli con forte velocità di corrente.*

Sono *S.mediterraneum* e *S.ornatum.*

6) *Specie ubiquiste.*

Vi appartiene *S.ornatum* il quale può svilupparsi in qualsiasi ambiente: grandi fiumi (fiume Tevere), torrenti e ruscelli di montagna (fosso la Valle nei monti Lepini), sorgenti montane (Fontana Grande - Amaseno) e pedemontane (Ninfa e molino S. Biagio di Fondi) piccoli ruscelletti a lentissima velocità di corrente (bonifica di Maccarese). E' presumibile quindi che si tratta di un gruppo di specie che va ulteriormente distinto,

7) *Reperti isolati.*

Riguardano: *S.reptans, S.auricoma,* e *S. sp.* Il primo è stato trovato nel fiume Arrone, verso la foce. Il reperto di *S.auricoma* si riferisce ad una sola

pupa trovata associata a *S.salopiense* nel fiume Garigliano. Quanto a *Simulium* sp. (nuova forma in corso di studio) questo è esclusivo per ora del fiume Garigliano.

LA DISTRIBUZIONE DI *Simulium pontinum* NELLE SORGENTI PEDEMONTANE DELL'AGRO PONTINO.

In base all'esame accurato di tutte le acque sorgive della prov. di Latina e di una buona parte di quelle della prov. di Roma risulta che la distribuzione di *S.pontinum* coincide con due fasce di sorgenti pedemontane. *La prima va da Ninfa a Terracina e comprende, circa* 50 *sorgenti* raggruppabili in 5-6 sistemi sorgivi. *La seconda, meno estesa, comprende circa* 30 *sorgenti,* di cui molte termali, adibite a stabilimenti (fig. 1) lungo la valle del Garigliano. *S. pontinum* manca totalmente nel numeroso gruppo di sorgive dell'alta valle Fratta, nonché in tutte le sorgive pedemontane della piana di Fondi. Questi due gruppi di sorgive privi di *S.pontinum* sono proprio quelle che non hanno nemmeno una sorgiva sulfurea. Tutto questo mi aveva portato ad asserire, (Rivosecchi 1960), che *S.pontinum* è una forma tipica delle acque sulfuree. Tuttavia questa asserzione sembrava in contrasto con due fatti: 1) *S.pontinum* viveva anche in acque non sulfuree; 2) in certe sorgenti sulfuree mancava completamente. Così il sistema sorgivo del Monticchio che è composto di 6 sorgive, di cui due sulfuree, presentava un focolaio larvale nella mola di Monticchio che è proprio l'unica sorgiva non sulfurea del sistema medesimo. Mentre due tipiche sorgive sulfuree del sistema medesimo (l'acqua Turchina e il Cacarello) erano completamente prive di *S.pontinum* e di ogni altra specie di simulide. Tale assenza non poteva essere spiegata con il fatto che queste sorgive erano fortemente sulfuree in quanto a poca distanza si trovava la sorgente mola dei Preti (fig. 4) con acque fortemente sulfuree (forte opalescenza, odore acuto di H_2S e spessi depositi pulverulenti di zolfo) che era letteralmente brulicante di larve.

Esaminando la concentrazione di H_2S, in varii punti di queste sorgive, mi è stato possibile stabilire che essa varia moltissimo anche in pochi metri del decorso ed in modo indipendente dalle caratteristiche organolettiche, (odore di H_2S, opalescenza, depositi sulfurei bianchi, ecc.), in base alle quali erroneamente giudicavo che una sorgiva fosse « *fortemente* o *debolmente sulfurea* ».

In base ai dati raccolti ho motivo di ritenere che *S.pontinum* si sviluppi a preferenza in sorgenti sulfuree che non hanno più di 3,3 milligrammi di H_2S per litro. Solo al di sotto di questa concentrazione incomincia a vivere nelle acque sulfuree, ma *senza specie associate*. Arrivato al limite di 0,5 mg di H_2S per litro ,si comincia a trovare assieme a *S.mediterraneum*.

Tabella 5

La distribuzione delle larve e pupe di S. ornatum, S. mediterraneum *e* S. pontinum *nelle sorgenti pedemontane dell'Agro pontino e nei corsi d'acqua che ne derivano.*

Nome della sorgente	Corso d'acqua che ne deriva	N. d'ordine della stazione e distanza dall'inizio della sorgiva	caratteristiche fisico-chimiche e organolettiche in ciascuna stazione: odore di H_2S presente + assente —	opalescenza presente + assente —	depositi sulfurei spessi (+) scarsi + assenti —	velocità di corrente cm. al sec.	ossigeno milligrammi per litro	H_2S milligrammi per litro	Temperatura C°	Distribuzione delle tre specie: R = rara, C = comune, A = abbondantissima
Ninfa	Piccoli ruscelli	1 (1-10 m.)	—	—	—	100-150	15,5	0	13	*S. ornatum* (A), *S. pontinum* (R), *S. medit.* (R)
Ninfa	Rio Ninfa	2 (1 Km.)	—	—	—	40-50	10,5	0	13	*S. medit.* (A); *S. ornatum* (R)
Ninfa	Canale acque alte (prima della V. Appia)	3 (2,500 Km)	—	—	—	160-170	10,0	0	14	*S. mediterraneum* (A)
Mola dei Preti . . .	Polla sorgiva	4 (1-20 m.)	+	+	(+)	50-60	2,4	5,8	14	simulidi assenti
Mola dei Preti . . .	Piccoli ruscelli	5 (30-50 m.)	+	+	(+)	100-150	3,1	3,3	14	*S. pontinum* (C)
Mola dei Preti . . .	Fosso Padoni	6 (700 m.)	—	—	—	30-40	7,8	0,6	13	*S. mediterraneum* (A)
Mola del Monticchio .	Sorgiva e cascata	7 (1-100 m.)	—	—	—	170-200	10	0	14	*S. pontinum* (A)
Il cacarello	Sorgiva e ruscello	8 (1-300 m.)	+	+	(+)	70-80	2,2	4,1	14	simulidi assenti
Acquapuzza	Polla sorgiva	9 (0-12 m.)	+	+	+	40-50	2,4	3,3	16	simulidi assenti
»	Prima cascata	10 (10-12 m.)	+	+	(+)	160-180	3,1	3,1	16	*S. pontinum* (R)
»	Seconda cascata	11 (60 m.)	+	+	(+)	160-180	4,3	2,6	16	*S. pontinum* (A)
»	Fiume coperto	12 (500 m.)	—	+	+	50-70	4,6	0,8	15	*S. pontinum* (A)
»	Sbocco nel f. Cavata	13 (1 Km.)	—	—	—	30-40	8,1	0,5	15	*S. medit.* (A), *S. pontinum* (R)
Mola Petrosanti . . .	Fosso	14 ((0,30 m.)	—	—	—	20-30	4,5	0,8	16	*S. pontinum* (C)
Fosselloni	Fosso	15 (100 m.)	+	+	(+)	100-120	3,1	0,6	13	*S. pontinum* (R)
Mola Petrosanti e Fosselloni	F. Cavatella	16 (1 Km.)	—	+	+	20-30	7,6	0,6	15	simulidi assenti
Tutte le sorgive esclusa Ninfa	F. Cavata	17 (3 Km.)	—	—	—	30-40	8,5	0	14	*S. mediterraneum* (A)
Mola dei Muti . . .	Polla sorgiva	18	—	—	—	50-60	9	0	15	*S. pontinum* (R)
Scafa Rapini	Polla sorgiva	19	—	—	—	80-100	9,5	0	15	*S. pontinum* (R)
Case nuove	Ruscello	20 (5-6 m.)	+	—	—	90-110	4,3	0,3	14	*S. pontinum* (R)
(Molte sorgive) . . .	F. Uffente	21	—	—	—	70-80	10	0	14	*S. mediterraneum* (A)
Mola 1ª di Terracina	Polla sorgiva	22	—	—	—	80-100	14,5	0	16	*S. ornatum* (C), *S. pontinum* (R), *S. medit.* (R)
Mola 1ª di Terracina	Ruscello e fosso	23 (6-20 m.)	—	—	—	60-80	14	0	16	*S. mediterraneum* (A)

Tabella 6

Distribuzione di S. pontinum *in rapporto alla quantità di* H_2S *ed* O_2 (1).

Stazioni di raccolta (N. d'ordine alla Tabella 5) . . .	8	9	4	5	10	15	11	20	14	12	16	6	13	17	18	19	7	3	21	2	23	22	1
Ossigeno (mg. per litro) . .	2,2	2,4	2,4	3,1	3,1	3,1	4,3	4,3	4,5	4,6	7,6	7,8	8,1	8,5	9	9,5	10	10	10	10,5	14	14,5	15,5
Acido solfidrico (mg. per litro)	4,1	3,3	5,8	3,3	3,1	1,6	2,6	0,8	0,8	0,8	0,6	0,6	0,5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Assenza di Simulidi . . .	+	+	+																				
S. pontinum .				+	+	+	+	+	+	+	+												
S. pontinum, + *S. mediterraneum* . . .												+	+		+	+	+						
S. mediterraneum														+				+	+	+			
S. pontinum, + *S. ornatum* .																					+	+	+

(1) L stazioni di raccolta sono le stesse della Tab. 5 ma disposte in modo che la quantità di Ossigeno sia crescente da sinistra a destra.

Quanto a *S.ornatum* esso non si trova mai in acque che contengono anche una minima traccia di H_2S. Sembrerebbe quindi che la quantità di H_2S sia decisiva nel determinare la distribuzione di queste tre specie che sono in sostanza le tre specie dominanti nelle acque della pianura pontina.

Un caratteristico esempio di ciò si osserva nella confluenza del fosso Coperto nel fiume Cavata (fig. 2 e fig. 3). Tutto il fosso Coperto ha esclusivamente *S.pontinum;* appena le acque sulfuree si mescolano con quelle del Cavata anche *S.pontinum* si mescola a *S.mediterraneum.*

In definitiva si può asserire che *S.pontinum* è, almeno limitatamente alla prov. di Latina, una forma caratteristica delle acque sulfuree, ma non si può stabilire un rapporto tra la sua distribuzione e le caratteristiche organolettiche delle sorgive sulfuree. Non è neppure possibile stabilire un rapporto tra distribuzione di *S.pontinum* e velocità di corrente, potendosi trovare le larve di questa forma, su sassi dove cade spumeggiando l'acqua di una cascata o tra le erbe di un ruscello dove l'acqua scorre lentissima (mola Petrosanti). Occorre però osservare che, quando le larve di *S.pontinum* si sviluppano in sorgenti a decorso molto lento, queste non sono mai fortemente sulfuree, mentre è proprio nelle sorgenti con una maggiore quantità di H_2S a litro (4-5 mg.), che le larve si concentrano dove l'acqua è spumeggiante (mola dei Preti e Acquapuzza). Quando una sorgiva fortemente sulfurea sbocca in una zona completamente pianeggiante che non determina un rimescolamento delle acque, *S.pontinum* è di regola assente; questo è il caso del Cacarello, Acqua Turchina e di varie sorgive sulfuree dell'Uffente e della valle del Garigliano. Ciò fa pensare che la distribuzione di questa forma a 10 ramificazioni branchiali sia influenzata dall'ossigeno di cui può disporre. Questa supposizione urta contro quanto ha dimostrato Phillipson 1957-58 nei suoi classici studi su *S.ornatum, S.variegatum* e *S.monticola.* Secondo quest'A. l'ossigeno non ha nessuna importanza come elemento capace di determinare la distribuzione di *S.ornatum* e non è affatto vero che le larve abbiano preferenza per acque altamente ossigenate. Egli aggiunge tuttavia che a bassa concentrazione di ossigeno (25% e meno) le larve di *S.ornatum* cominciano a diventare sensibili a piccole differenze di concentrazione di ossigeno. Pertanto dato che l'ossigeno scarseggia nelle acque sulfuree, si può presumere che in questo caso particolare possa avere una certa influenza, unitamente ad altri fattori (pH, temperatura, ecc.), la cui importanza per ora non è stata accuratamente vagliata (*).

(*) Per ciò che si riferisce al pH può darsi che questo sia il fattore più importante e a cui è realmente legata la distribuzione di *S. pontinum.* Raffaelli 1948 scoprì che nella prov. di Latina esistono due areali di natura vulcanica (zone di Sermoneta e Suio-Garigliano) in cui tutte le acque (anche non sulfuree) hanno un pH nettamente inferiore (6,1-6,8). Orbene questi due areali sono proprio quelli nei quali si trova *S. pontinum.* Lo stesso Raffaelli 1948, tra tutti i corsi d'acqua dell'agro

Quando *S.pontinum* si trova in acque non sulfuree, più ricche di ossigeno (*) esso deve affrontare la « competizione » principalmente con altre due specie: *S.ornatum* e *S.mediterraneum*. La grandissima abbondanza in certe sorgive sulfuree è presumibilmente una conseguenza della incapacità di queste due specie di adattarsi, sia pure limitatamente, alle particolari condizioni delle acque sulfuree. Per conseguenza *sia le sorgenti debolmente sulfuree e con lenta velocità di corrente, sia quelle fortemente sulfuree con acque scroscianti* avendo la medesima concentrazione di H_2S finiscono per rappresentare una specie di *nicchia rifugio* nella quale *S.pontinum* può svilupparsi senza affrontare alcuna competizione. Partendo da queste nicchie-rifugio esso si espande molto limitatamente in zone limitrofe ove si mescola con le altre due specie in acque non sulfuree.

LA QUANTITÀ DI H_2S E O_2 NEL SISTEMA SORGIVO DELL'ACQUAPUZZA

La distribuzione delle larve e pupe di *S.pontinum* in questo sistema sorgivo è stata tenuta sotto controllo per circa 2 anni. Si è potuto così osservare che i punti ove le larve sono molto abbondanti (3 segni + nella fig. 5), mediocremente abbondanti (due segni +), scarse, (un segno +) o assenti (un segno —), sono particamente sempre i medesimi. Ciò sembra dovuto tra l'altro, anche al fatto che le femmine depongono le uova sempre nei medesimi punti. Esaminando la quantità di H_2S e O_2 (a litro di acqua sorgiva) in questi punti caratteristici si osserva un certo rapporto tra la distribuzione delle larve e la loro concentrazione. La sorgente dell'Acquapuzza è in realtà composta di 5 sorgive (fig. 5). Queste polle differiscono per portata e contenuto in H_2S. Quattro hanno portata minima e danno luogo ad altrettanti ruscelletti, una con notevole portata sorge da una grotta. Dei 4 ruscelletti indicati nella figura con le lettere A - B - C - D, tre sono fortemente sulfurei (H_2S più di mg. 6 per litro) e privi di larve di simulidi, uno leggermente sulfureo (H_2S = 0.5 mg./l) permette lo sviluppo delle larve di *S.pontinum*. L'acqua sulfurea della bocca principale sotto la grotta ha una conc. di H_2S pari a 3,3 mg./litro (ossigeno 2,4 mg. per litro) e scorre per alcuni metri a scarsa velocità formando una grande vasca. Qui non si raccolgono mai larve, ne si osservano mai deposizioni delle femmine. Da questo punto l'acqua sulfurea fa un salto di tre metri e si rompe sulle rocce e solo da questo punto si cominciano a trovare le

---

Pontino, notò nel fiume Cavata un brusco abbassamento del pH in corrispondenza delle sorgive sulfuree della zona di Sermoneta, ed il f. Cavata è l'unico corso d'acqua di una certa portata in cui si trovi *S. pontinum*, che solo in questo punto si inoltra nella pianura pontina.

(*) Nella sorgiva di Ninfa, Stella 1955 ha trovato una conc. di ossigeno pari a 9,07-13,40 mg. per litro. Nel lago maggiore Vollenweider 1959 ha trovato da 9 a 10 mg. di Ossigeno per litro. Valori così elevati io ho trovato solo in acque completamente prive di ogni minima traccia di H_2S.

prime larve come pure si osserva qualche femmina che depone (*) all'inizio del salto dell'acqua. Qui si trova una quantità di ossigeno superiore: 3,1 mg. per litro. Poi l'acqua scorre in un profondo canale, fa un secondo salto di circa 2 metri, si impoverisce ancora di H_2S (2,6 mg. per litro) e si arric-

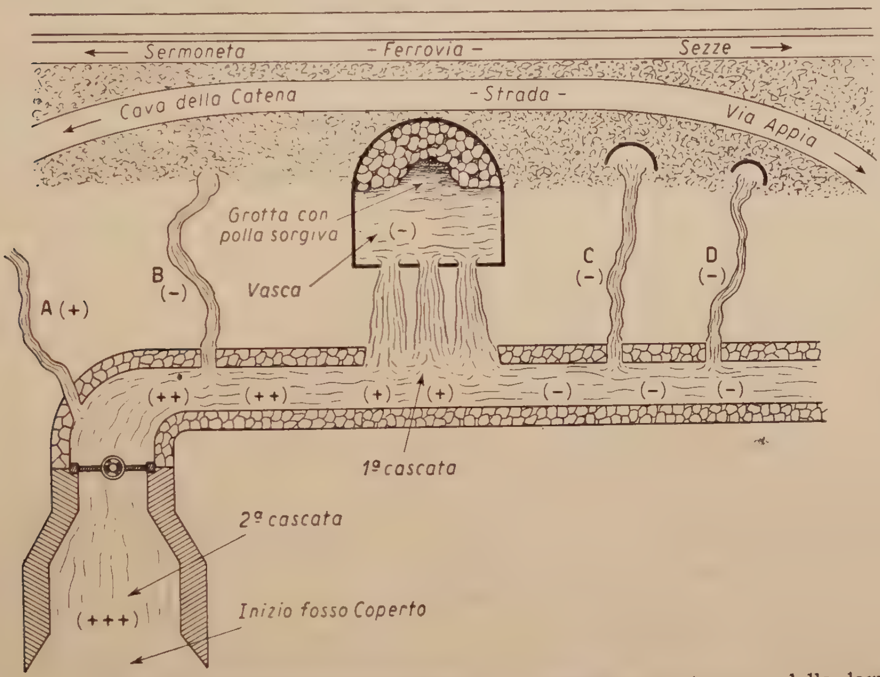

Fig. 5 — Il sistema sorgivo dell'Acquapuzza e la distribuzione in esso delle larve e pupe di *S. pontinum* in rapporto alla quantità di H_2S.

(—) = Larve e pupe di *S. pontinum* assenti; H_2S da mg. 3,3 a mg. 6 per litro di acqua sorgiva; Ossigeno da 2,2 a 2,4 mg. per litro.

(+) = Larve e pupe di *S. pontinum* raramente presenti e sempre molto scarse (1 o 2 es.); H_2S da 3.1 a 2,6 mg. per litro e O_2 da 3,1 a 4,3 mg. per litro.

(++) = Larve e pupe sempre presenti, H_2S e O_2 come sopra.

(+++) = Larve e pupe sempre presenti e in grande quantità; H_2S da 2,6 a 0,8 mg. per litro, O_2 da 4 a 8 mg. per litro.

B. C. D, sono piccoli ruscelli provenienti da altrettante polle sorgive con acqua fortemente sulfurea (6 mg. di H_2S a litro). A è un ruscello con acqua meno sulfurea (0,5 mg./lit.). All'inizio della 2ª cascata si osserva un gran numero di f. che depongono.

chisce di ossigeno (4,3 mg. per litro). Da questo punto esattamente, si ha un netto aumento della densità delle larve che, da qui in poi per tutto il fosso Coperto ricoprono letteralmente le erbe del fondo. A 500 metri da questo secondo salto il fosso Coperto contiene ancora 0,8 mg. di H_2S per litro e mg. 4,6 di O_2. Non appena si versa nel Cavata (fig. 4) l'H_2S

(*) Il modo di deporre di queste femmine non è sempre il medesimo infatti esse sostano lungo i bordi dell'acqua corrente ricoprendo di uno strato di uova qualsiasi oggetto che sia spruzzato o lambito da acqua in movimento tumultuoso, ma alle volte volano in fitti sciami attorno ai punti in cui l'acqua è spumeggiante e sembra che vi abbandonino direttamente le uova.

si riduce a delle tracce impercettibili mentre il contenuto di O_2 passa a 8,1 mg. per litro e *S.pontinum* viene gradualmente sostituito da *S.mediterraneum.*

Un fatto analogo si osserva nella sorgente sulfurea mola dei Preti. Le acque di questa sorgiva al momento in cui sboccano da una grotta contengono mg. 5,8 di H_2S per litro e solo gr. 2,4 di O_2 per litro. L'acqua frantumandosi fra le rocce, (fig. 4 A) nel giro di poche decine di metri deposita S_2 sotto forma di deposito bianco che ricopre i sassi e le erbe, la concentrazione di H_2S si riduce rapidamente a 3 mg/litro, e diviene possibile lo sviluppo delle larve di *S.pontinum*. Dopo un altro breve tratto le stesse acque si versano nel fosso dei Padoni dove, l'H_2S scompare quasi del tutto e *S.pontinum* comincia a mescolarsi con *S. mediterraneum.*

Habitat larvale e speciazione in *S.pontinum*

Se in una sorgente si raccolgono pupe con 10-11 ramificazioni e pupe con 8 rami (sorgenti di Ninfa e Terracina) e gli adulti si lasciano sfarfallare insieme, (senza cioè separare preventivamente le ninfe) la separazione tra gli adulti è possibile per le femmine, in base a qualche piccolo dettaglio morfologico dell'ipopigio, mentre la distinzione tra i maschi può dare adito a incertezze.

Se si aggiunge che anche le larve differiscono solo per un piccolo dettaglio, viene fatto di domandarsi se, nonostante la netta differenza nel numero delle ramificazioni nei filamenti branchiali delle pupe, sia lecito considerare *S.pontinum* come una specie o se non sia semplicemente una varietà di *S.ornatum* o una razza ecologica.

Grenier 1947 ad esempio scoprì ninfe di *Prosimulium hirtipes* con 25 filamenti da ciascun lato, anziché 16 come nella forma tipica che considerò da prima come una varietà (var. *arvenense*) poi (1953) come una forma, mai come una specie.

Syme e Davies 1958 soprattutto in seguito agli studi sui cromosomi delle ghiandole salivari fatti da altri AA. (Rothfels 1956 e Rothfels e Dunbar 1953) considerano *Pr. hirtipes* del Nord America come un complesso di 3 diverse specie, nonostante che le differenze morfologiche tra gli adulti siano esigue (vescicole sensoriali del terzo articolo di palpi mascellari).

E' evidente che basandosi sui soli caratteri morfologici è difficile stabilire un criterio obbiettivo per definire la categoria sistematica di una determinata popolazione.

Secondo Mayr ed al. 1953 si possono distinguere almeno tre categorie sistematiche: 1) le specie (isolate riproduttivamente); 2) le sottospecie

(isolate geograficamente); 3) le varietà e tutte quelle entità che occupano un rango inferiore alla sottospecie.

Mayr ed al. 1953 ammettono però che in taluni casi ci si trovi nella necessità di dare un nome nuovo ad esemplari di una popolazione la cui categoria sistematica (specie, sottospecie o varietà) non è definibile. Consigliano in tal caso di descrivere gli es. come « *forme nuove* ». A questo criterio si sono presumibilmente attenuti alcuni AA. che di recente hanno illustrato piccolissime variazioni morfologiche in ninfe di simulidi (Grenier e Bertrand 1956: *S.rupiculum* forma *hispaniola*, Doby e Deblock 1957 *S.ornatum* forma *spinosum*, ecc...).

Secondo quanto si ricava da un articolo di Rubtzov 1959, nei processi di speciazione dei simulidi si possono distinguere almeno 3 diversi casi:

1) *Forme affini, simpatriche con lo stesso habitat larvale*: se queste forme, pur convivendo nello stesso ambiente non danno luogo a forme intermedie si può ritenere senz'altro che siano buone specie Linneane.

2) *Forme affini, simpatriche e con diverso habitat larvale* (gruppo *O.ornata*): sono difficili da distinguersi ma si possono considerare come specie valide, non sottospecie, né alcun'altra forma intraspecifica, purché si mettano in evidenza le differenze biologiche (abitudini trofiche, ciclo di sviluppo, ecc...).

3) *forme affini allopatriche*: sono le più difficili a studiarsi e il criterio da seguire è quello di considerarle come facenti parte di un unica specie.

S.pontinum rientra evidentemente nel secondo caso, trattandosi di una forma strettamente affine alle specie del gruppo *ornatum* ma con diverso habitat larvale. Pertanto a mio avviso si possono fare due ipotesi sulla categoria sistematica di *S.pontinum*: 1) E' una buona specie, in quanto esiste un completo isolamento riproduttivo (*) rispetto alle altre specie del gruppo « *ornatum* ». Questa ipotesi è avvalorata da 2 fatti: *a*) in due sorgenti (Ninfa e Mole di Terracina) in cui *S.pontinum* e *S.ornatum* erano associati non si trovava alcun esemplare di forma intermedia;

(*) Il problema dell'isolamento riproduttivo nei simulidi è di difficile soluzione non essendosi ancora trovato il modo di allevare i simulidi in laboratorio per più di una generazione. Una importante soluzione del problema è quella escogitata da Dunbar 1958 con l'esame dei cromosoni delle ghiandole salivari. L'assenza di ordinamenti eterozigoti in tutti i cromosoni di un gran numero di larve, dimostra con sicurezza che nell'ambito di una popolazione di simulidi apparentemente omogenea (per ciò che si riferisce ai caratteri morfologici esterni), possono esistere due popolazioni con due distinti ordinamenti cromosomici e completamente isolate dal punto di vista riproduttivo. Queste due popolazioni sono quindi due « specie biologiche » o « sibling species » secondo la definizione di Mayr ed al. 1953.

b) la comparsa degli adulti avviene in periodi diversi (***); 2) E' una sottospecie ecologica, in quanto l'isolamento riproduttivo è solo parziale ed esistono delle rare forme intermedie che non ho ancora raccolto.

Fig. 6 — Branchie cuticolari di *Simulium* sp. (f. Garigliano). L'adulto (m.e f. si avvicina a *S. reptans*.

Si può invece senz'altro escludere che *S.pontinum* sia una semplice razza ecologica senza alcun isolamento riproduttivo, neppure parziale, rispetto alle altre specie del gruppo « *ornatum* ». Infatti *S.pontinum* è rappresentato da una popolazione molto numerosa e con caratteri sempre costanti e senza forme di passaggio, sia in acque sulfuree di differente concentrazione sia in acque totalmente prive di H_2S.

A CONTRIBUTION TO THE KNOWLEDGE OF ITALIAN *SIMULIIDAE (DIPTERA NEMATOCERA)*. I°. THE PROVINCE OF LATINA.

A collection of *Simuliidae* (larvae 436 ex., pupae 1367 ex., f. and m. 374 ex.) was made in the Latina province. On the basis of the pupal characters only, it was possible to make a diagnocis of all species (or group species, page 40) examined, except one. On the latter case all available specimens appeared to be similar to *S. reptans* in the adult stage but with ten respiratory filaments (fig. 6). The geografical distribution of *Simuliidae* larvae or pupae is indicated in fig. 1 and 2 where initial of each species are used. Some characteristics of the larval *habitat* are reported in tab. 1 to 4. Figs. 3 and 4 show two collecting stations for *S. mediterraneum* and *S. pontinum*. In the Latina province the location larvae and pupae of *S. pontinum* is restricted to two areas at sulphureoos springs. In one of these two areas consisting of a series

(***) Per quello che ho potuto osservare sin ora *S. pontinum* (forse anche in rapporto alla temperatura più elevata delle acque sulfuree; 16-18°C. anche in pieno inverno) sfarfalla molto precocemente tra la metà di gennaio e i primi di febbraio. Nello stesso periodo nelle stazioni di raccolta di *S. ornatum* si trovano solo piccole larve.

of 14 groups of springs (table 5) the concentration of H_2S and O_2 was analyzed by the iodometric method and Winkler's method respectively were tested in 23 spots. In seven points, exclusively populated by *S. Pontinum*, H_2S concentration was 3,3-0,8 mg./l and O_2 3,1-4,6 mg./l. The concentrations found in other points and the distribution of three species *(S. pontinum, S. ornatum, S. mediterraneum)* is reported in tables 5 and 6. In a group of five sulphureous springs flowing toghether to the same stream (fig. 5) the distribution of *S. pontinum* was controlled for two years with the result that in those places (sign. — in fig. 5) where H_2S conc. was 5-6 mg./l. (O_2 = 2,5-3 mg./l) neither larvae nor ovopositing females were found. At points with increasing distance from the source, and H_2S concentration less than 3 mg./l, the larvae become more and more abundant and many adult females could be seen while ovopositing. As the H_2S concentration full below 0,6 mg./l and at the convergence with H_2S - free streams, *S. mediterraneum* begins to appear and eventually replaced *S. pontinum* completely.

BIBLIOGRAFIA

CORTI E. (1914): Le simulie italiane. Nota I - *Atti soc. it. sc. nat. Milano, 53*, 192-206.

DAVIES D. M. and SYME P. D. (1958): Three new Ontario black flies, Part. II - *Canad. entomologist, 90*, 744-759.

DOBY J. M. et DAVID F. (1959): Description de *Greniera fabrii*, Doby et David, 1959 *(Diptera Nematocera Simuliidae)* en provenience de l'Ouest de la France (Loire-Atlantique). *Bull. soc. path. ex., 52*, 669-679.

DOBY J. M. et DAVID F. (1960): *Simulium (Simulium) lamachi* nov. spec. Simulie nouvelle *(Dipterès Nématocères)* en provenance des Pyrénées-Orientales. *Vie et Milieu, 11*, 106-117.

DOBY J. M. et DEBLOCK S. (1957): Présence de tubercoles tégumentaires épineux chez la nymphe d'une forme autrichienne de *Simulium ornatum* Meig., *S. ornatum* f. *spinosum* n. f. *Ann. paras. hum. comp., 32*, 328-330.

DOBY J. M. et DOBY-DUBOIS M. (1955): Complément à la faune des Simuliidés des Pyrénées orientales. *Vie et Milieu, 6*, 123-128.

DUNBAR R. W. (1958): the salivary gland chromosomes of two sibling species of black flies included in *Eusimulium aureum* Fries. *Canad. Jour. zool., 36*, 23-44.

FRIZZI G. (1957): Ecologia e speciazione nei ditteri nematoceri. *Boll. zool., 24*, 451-471.

GRENIER P. (1953): Simuliidae de France et l'Afrique du Nord. Paul Lechevalier Paris.

GRENIER P. (1947): Notes morphologiques et biologiques sur quelques simulies nouvelles pour la faune Française. *Bull. soc. ent. Franc., 52*, 66-69.

GRENIER P. et BERTRAND H. (1956): *Simuliidae (Diptera Nematocera)* d'Espagne. *Ann. paras. hum. comp., 29*, 447-459.

GUIDOTTI M. (1942): Le sorgenti italiane: la Campania. Ist. poligraf. dello Stato, Roma.

HOCKING M. SC. and RICHARDS B. SC. (1953): Biology and control of Labrador black flies. *Bull. ent. res., 43*, 237-257.

MAYR E., USINGER R. L. and LINSLEY E. (1953): Methods and principles of sistematic zoology. New York.

NOVAK V. J. A. (1956): A note on the black flies of Czechoslovakia. *Acta soc. zool. Bohemoslovenicae, 20*, 224-248.

NOVAK V. J. A. (1957): *Twinnia hydroides* sp. n. *(Diptera Simuliidae)*, ein Vertreter der Unterfa milie *Gymnopaidinae* Rubz. in Europa. *Zool. Anzeig. 159*, 168-174.

NOVAK V. J. A. (1959): Dalsi nova muchincka podcedi *Gymnopaidinae* z csz *Twinnia tatrensis* sp. n. *(Diptera Simuliidae). Acta soc. ent. cechosloveniae, 56*, 364-367.

NOVARESE V. e RAMPAZZI M. (1934): Le sorgenti d'Italia: agro pontino III. Ist. pol. dello Stato, Roma.

PETERSON B. V. (1956): Observation on the biology of Utah black flies *(Diptera Simuliidae). Canad. entomologist, 88*, 496-507.

PETERSON B. V. (1959 a): Notes on the biology of Utah black-flies *(Diptera Simuliidae). Mosquito news, 19*, 86-90.

PETERSON B. V. (1959 b): Observation on mating feeding and oviposition of some Utah species of black flies *(Diptera Simuliidae). Canad. entomatologist, 91*, 147-155.

PHILLIPSON J. (1957): A study of factors determining the distribution of the larvae of the black fly *S. ornatum* Meig. *Bull. Ent. Res., 47,* 227-238.

PHILLIPSON J. (1958): The effect of current spreed on the distribution of the larvae of the black flies *S. variegatum* (Meig.) and *S. monticola* Fried., *Bull. Ent. Res., 448,* 811-818.

RAFFAELLI D. (1948): Su alcuni caratteri chimico-fisici delle raccolte idriche della provincia di Latina in rapporto alla natura dei terreni. *Rend. Ist. sup. san., 11,* 1086-1109.

RIVOSECCHI L. (1960): Un nuovo simulide dell'agro pontino. *Rivista di parass. 21,* 229-244.

ROTHFELS K. H. and DUNBAR R. W. (1953): the salivary gland chromosomes of the black fly *S. vittatum* Zett., *Canad. Jour. zool., 31,* 226-241.

ROTHFELS K. H. (1956): siblings, sex and species grouping. *Jour. Hered., 47,* 113-122

RUBTZOV J. A. (1956): Moski (Simuliidae), Fauna dell'U.R.S.S. VI (6). - *Mosca.*

RUBTZOV J. A. (1959): Species in Simuliidae. XVth international congress of Zoology London 1959 Procedings. London 1959 H. R. Hewer and N. D. Riley.

SOMMERMAN K. M., SAILER R. I., ESSELBAUGH C. O. (1955): Biology of Alaskyan black flis. *Ecol. monographs, 25,* 345-385.

SYME P. D. and DAVIES D. M. (1958): three new Ontario black flies of the genus *Prosimulium I: Canad. entomologist, 90,* 697-719.

SMART J. (1944): The British Simuliidae. *Freshwater biological association,*

STELLA E. (1955): Le biocenosi del sistema sorgivo di Ninfa (agro romano). *Boll. pes., pisc. e idrobibol., 10,* 149-196.

TREADWELL W. D. (1930): Trattato di chimica analitica, Milano.

VOLLENWEIDER R. A. (1959): Alcune osservazioni sulla dinamica dell'ossigeno nel lago maggiore (Pallanza). *Memorie dell'Ist. it. idrobiol. Marco de Marchi, 11,* 243-264.

ZIVKOVIC V. (1955): Contribution à l'étude des Simuliides de Yougoslavie *(S. equinum L., S. eq. var. mediterraneum, S. salopiense* Ed.). *Bull. Acad. Serbe Sciences* 11, *(nov. ser. Sc. med.),* 1-2.

ZIVKOVIC V. (1957): Les Simulies *(Dipt. Simuliidae)* de Vojvodina. *Recueil des trav. LXVI. Inst. rec. med. Acad. Serbe Sc., 47, 138-141.*

ZIVKCOVIC V. (1960): Sur quelques especes des Simulies *(Simuliidae, Diptera)* nouvelles pour a Yougoslavie. *Acta veterinaria, 10,* 43-48.

ZIVKOVIC V. e FILIPOVIC D. (1956): VII contribution à l'étude des Simuliides de Yougoslavie. *Rec. trav. Acad. Serbe, 47,* 61-68.

ZIVKOVIC V. e KACANSKI D. (1959): Les simulies *(Dipt. Simuliidae)* du Urbas et de ses affluentes. *Acta veterinaria, 9(* 57-62.

ZIVKOVIC V. e KECKAROSKA-ILIEVA J. (1956): Contribution à la connaissance des simulies de la Macédoine. *Glas de Acad. Serbe des Sciences, 223,* 235-243.

ZWLOSKI W. (1958): Mustyki *(Simuliidae)* Lubelsezyzny. *Ann. Univ. M. Curie Sklod. 13,* 231-259.

RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. XXII - N. 1 - Marzo 1961

RIVISTE SINTETICHE E CRITICHE

LE PROVE DI AMEBICIDIA "IN VITRO" RASSEGNA CRITICA E PROPOSTA DI UNA METODICA STANDARD

L. MAGAUDDA-BORZÌ (*) e L. PENNISI (*)

Il problema terapeutico della amebiasi resta tuttora aperto, in attesa di un farmaco di elezione che accoppi all'azione specifica sul protozoo (possibilmente sia nelle forme enteriche che nelle localizzazioni extra intestinali) una indiscussa innocuità nei riguardi dell'ospite.

Recentemente, inoltre, si è posto l'accento sulla utilità e possibilità di una chemioprofilassi dell'amebiasi e De Carneri (1959), nel prospettare l'importanza di tale problema, afferma che un chemioterapico, perché possa agire in senso profilattico, deve essere *dotato di forte azione amebicida diretta, sprovvisto o quasi di azione antibatterica, modicamente assorbito dal lume intestinale, sprovvisto di effetti secondari o tossici*. Poiché i classici farmaci antiamebici non offrono una garanzia totale di innocuità è giustificata la continua ricerca di nuovi preparati che ad essa accoppino una reale e considerevole attività amebicida diretta.

Data la mole dei nuovi preparati continuamente approntati, prima di passare alle prove « in vivo » sugli animali, è necessario effettuare una selezione (« screening ») *in vitro* onde poter escludere le sostanze sicuramente inattive.

Storicamente fu Loesch (1875) (citato da Micheletti e Agostinucci) ad avviare prove *in vitro* su *Entamoeba histolytica*, saggiando il solfato di chinina che risultò amebicida alla diluizione di 1/5000. Successivamente Wedder (1911-1912) sperimentò con la ipecacuana su colture di amebe a vita libera, seguito da Wheng (1912) e da Thomson e Thomson (1916) su trofozoiti e cisti di *E.histolytica* ed *Entamoeba coli*.

Dopo che Boeck e Drbohlav (1924) misero a punto un terreno che consentì la coltivazione di *E.histolytica*, fu possibile iniziare in laboratorio indagini routinarie per la selezione dei farmaci (Kofoid e Wagener 1925, Dobell 1926 ,Laidlaw e Dobell, Ripaz 1928 etc.). L'avvento degli antibiotici, ultimamente, ha fatto sì che il numero delle ricerche si moltiplicasse enormemente.

Su questo criterio selettivo, però, non tutti gli AA. sono d'accordo, ed infatti, se alcuni di essi considerano queste prove come veramente indicative altri negano ad esse qualsiasi valore (Thompson etc.), basandosi, soprattutto, sul fatto che farmaci, rilevatisi efficaci *in vitro*, non hanno confermato, poi, la loro attività *in vivo* (Pynam 1937). Tale discordanza di pareri è legata, in genere, alla difficoltà di coltivare *E.histolytica* in assenza di flora batterica associata ed alla incompleta conoscenza della sua biologia.

Riesce, pertanto, difficile sceverare l'azione diretta sul trofozoita da quella indiretta esplicata per azione sulla flora batterica, sul potenziale di ossido-riduzione, sul pH, etc. Né siamo a conoscenza delle differenze che possono sussistere tra stipite e stipite di *E.histolytica*, come resta, ancora, non ben chiarita la validità della esecuzione delle prove con altre specie o varietà di amebe, anche se, a tal proposito, ricerche sono state eseguite dal De Carneri (*Entamoeba moshkovskii*).

In alcune note precedenti (Magaudda-Borzì e Pennisi 1957) avevamo già rilevato la difficoltà di valutazione delle prove *in vitro*, difficoltà legata alla grande difformità dei metodi impiegati, ed avevamo accennato alla necessità di uno studio

(*) *Istituto di Igiene della Università di Messina* (Direttore: prof. R. De Blasi).

comparativo dei vari dati fin'ora ottenuti sia a scopo normativo che per potere fare il punto sulla validità o meno di queste prove.

Abbiamo, pertanto, cercato di raccogliere quanti più dati è stato possibile e di riordinarli in tabelle in modo da poter eseguire una utile comparazione. Il compito non è stato facile e non abbiamo potuto riferire i risultati portati da diversi AA. per la insufficienza quasi assoluta dei dati utili. Abbiamo, pertanto, dovuto limitare il numero dei fattori variabili presi in considerazione, riducendoli a quattro e cioè:

1) variazione della concentrazione amebicida e amebistatica delle varie sostanze in relazione ai terreni mono e difasici usati (Tabella 1);

2) variazione della concentrazione amebicida delle varie sostanze in relazione alla coltura in aerobiosi ed anaerobiosi (Tabella 2);

3) variazione della concentrazione amebicida delle varie sostanze in relazione al tempo di contatto (Tabella 3);

4) variazione della concentrazione amebicida delle varie sostanze in relazione agli stipiti di *E.histolytica* usati (Tabella 4).

I dati riportati nelle quattro tabelle mettono chiaramente in evidenza le notevoli differenze riscontrate dai vari AA. nel valutare l'azione di una medesima sostanza su ceppi differenti o identici, in condizioni sperimentali apparentemente sovrapponibili. In conseguenza di ciò alcuni AA. considerano tali ricerche affatto prive di qualsiasi utilità e le discordanze dei risultati ottenuti sembrerebbero confermare questa tesi.

Nell'intento, però, di valutare a fondo il problema ci sembra necessario mettere a fuoco, in base sia alla nostra esperienza che a quella dei numerosi ricercatori che si sono occupati dell'argomento, i punti di fondamentale importanza che bisogna tener presenti nella esecuzione e nella valutazione dei risultati di tali prove e cioè:

1) scelta e numero degli stipiti di *E.histolytica;*
2) scelta della flora batterica associata;
3) terreno di coltura;
4) coltivazione in aerobiosi o in anaerobiosi;
5) tempo di contatto e influenza del pH e del POR;
6) quantità di trofozoiti inoculati nei terreni di coltura;
7) valutazione dell'attività amebicida;
8) possibilità dell'uso, nello «screening», di amebe diverse da *E.histolytica.*

(Nel trattare i vari punti sopra menzionati si farà riferimento alle tabelle sopra riportate).

1) SCELTA E NUMERO DEGLI STIPITI DI *E. histolytica*.

Non tutti gli AA. specificano la denominazione e l'origine dello stipite di *E.histolytica* adoperato. Alcuni ricercatori usano ceppi coltivati ormai da anni nei laboratori (F22, 103T, NRS, UC) mentre altri lavorano con amebe isolate di recente dalle feci di dissenterici (Fenselfeld, Spingarn, Edelman).

E' noto (Thompson, Neal e Vincent, De Carneri, ecc.) come *E.histolytica* dopo lunga coltivazione *in vitro* possa perdere la capacità di superare la barriera dell'epitelio intestinale degli animali di laboratorio e d'invadere gli altri tessuti. Ciò significa che con la prolungata coltivazione l'ameba perde il suo potere di patogenicità ed invasività. Del resto, già nel 1928, Dobell e Laidlaw notarono che *E.histolytica* perde *in vitro,* la virulenza nutrendosi, nelle colture, di amido di riso. D'altro canto, ceppi che hanno perduto la loro patogenicità possono riacquistarla dopo alcuni passaggi seriali nel criceto (De Carneri e coll.). E' noto, inoltre, come la grandezza dei trofozoiti possa variare nelle colture da lungo tempo tenute in collezioni in seguito a passaggi nel fegato o nell'intestino di animali ricettivi. Non vi è chi non veda l'importanza di tali osservazioni; come le amebe coltivate *in vitro* da numerosi anni possono perdere alcune caratteristiche biologiche fondamentali, per cui il loro parassitismo si è attenuato, così, del pari, potrebbero variare la loro resistenza ai più disparati agenti. Se questi fenomeni di variazioni siano temporanei o duraturi non è ancora ben chiaro; nulla ci vieta, però, di pensare che, come *E.histolytica* può presentare variazioni circa la sua patogenicità e i suoi diametri, così potrebbe perdere altri attributi biologici per modificazioni biochimiche del proprio metabolismo. La sua sensibilità ai farmaci, pertanto, potrebbe essere più o meno accentuata e, comunque, profondamente diversa da quella di una ameba quale la si ritrova nell'intestino dell'ammalato. Sarebbe interessante, a tal fine, saggiare la resistenza di un ceppo appena isolato e controllare se, a distanza di tempo, tale

TABELLA 1

Variazione della concentrazione amebicida ed amebistatica di varie sostanze in terreni mono e difasici (gamma × cc. o U × cc.)

Sostanza saggiata	AUTORI	Attività amebicida – Terreno Colturale – Difasico	Attività amebicida – Terreno Colturale – Monofasico	Attività amebistatica – Terreno Colturale – Difasico	Attività amebistatica – Terreno Colturale – Monofasico	Inattività
Acetarsone	Thompson		1500		1500	
Acetilarsone	Kofoid-Wagener	100				
Acriflavina	Magaudda-Pennisi	755-1500	30-152			
Actidione	Hansen		0.1-1			
	Nakamura-Anderson-Bradin		0.1-1			
	Phillips		5-50			
	Thompson	0.87		0.10		0.03
Actimicina	Lynch	62.5				
Anisomicina	Lynch	1.5-1.9				
	Thompson 24 h :	1500		750		
	48 h :	1.25		0.31		0.16
Antibiotic S	Bradin-Hansen		5-10			
Arsenamide Na	Phillips		25			
Arsenobenzene	Kofoid-Wagener	10				
Auramina	Yoo-Emerson		10-100			
Asazerina	Nakamura	50-100				
	Thompson	1000	1000	333	333	215
Azur A	Yoo-Emerson		100-1000			
Azur C	Yoo-Emerson					1000
Bacitracina	Felsenfeld		137U		1 U	
	Bradner-Rawson	1000	1000			2000
	Hansen-Bennett	+ 7800	1190			
	Magaudda-Pennisi	—	—			
		+ 7800	3380			
	Phillips		10000			inatt.
	Thompson		2-1000			
	Nakamura		2-1000			
	Bradin-Hansen		40-100			
Biallylamicol	Thompson					1000
Bleu Evans	Yoo-Emerson		100-1000			
Bleu Nilo	» »		100-1000			
Bleu Celestino	» »		100-1000			
Bleu Toluidina	» »		100-1000			
Bleu Toluilene	» »					1000
Bleu Niagara	» »					1000
Brill. Cres. Bleu	» »		20-50			
Carboxymetile	Nakamura-Anderson	125-1000				
Carbomicina: (Magnamicina)	Seneca	31-125				
	Seneca-Ides	500-1000				
	Lynch	1000				
	Thompson	250		350		250
Carbarsone	Lynch		4		1000	
	Balamuth		1000			
	Thompson		500-3333			
	Nakamura-Anderson	250	125			
	Bradner-Rawson		500-2000			
	Bradin-Hansen		3000			
Chiniofon: (Yatren)	Thompson	1000	250			
	De Carneri	800				
	Kofoid-Wagener	+ 2500	273-655			
Cicloserina	Magaudda-Pennisi		10		1	
	Nakamura					

(Segue Tabella 1)

Sostanza saggiata	AUTORI	Attività amebicida		Attività amebistatica		Inattività
		Terreno	Colturale	Terreno	Colturale	
		Difasico	Monofasico	Difasico	Monofasico	
Cloramfenicolo	Lynch	250				125
	Thompson	333		167		
	Thompson	500-666	286-375	1500-2000	125-250	
	Phillips		3000-5000			
	Bradner-Rawson	inattivo	500			
	Magaudda-Pennisi	+ 2500	379-610			
	Shaffer-Biegeleisen		140-370			
	Felsenfeld		127		51	
	Saito		400		200-250	
	Bradin-Hansen		10-1000			
Clorotetraciclina	Lynch	125				
	Shaffer-Biegeleisen		29-59			
	Felsenfeld		37			
	Balamuth		200-200			
	Magaudda-Pennisi	227-770	19-127			
	Phillips		100-250			
	Bradner-Rawson	125	62.5			
	Thompson	125-250		63		125
	Nakamura-Anderson		0.2-100			
	Hansen-Bennett		1-4			
	Hewitt e coll.		1000			
	Spingarn	1.6-16				
	Fuller-Faust		10-20			
	Bradin-Hansen		2-50			
Clorochina	De Carneri	2000	500-1000			
	Anastopulos-Birck		235			
Colimicina	Magaudda-Pennisi	18520 U / 30000 U	7460U / 1910U			
Diiodossichinolina	Thompson		150		100	
Diodoquina	Bradner-Rawson	inattivo	1000			
Daraprime	Lynch	62.5				
Emetina	Lynch	3.9				
	Thompson		4.5-15		2-6	
	Balamuth		0.5-4			
	Phillips		5-20			
	Bradner-Rawson	62.5	31			
	Hewitt-Wallace		25			
	Nakamura-Anderson		10			
	Anastopulos		12.5			
	Hansen-Bennett		10			
	Bradin-Hansen		10			
	Kofoid-Wagener	100				
	Laidlaw		0.2			
	De Carneri	40	1-4			
	Brackett-Bliznich	5				
	Dobell		0.2			
Eritromicina	Lynch	500-1000				
Etil violetto	Yoo-Emerson					1000
Fradicina	Felsenfeld		12		100000	
Fumagillina	Balamuth		0.013			
	Lynch		0.03-0.037			
	Hrenoff-Nakamura		0.1-0.06			
	Mc Cowen		0.12-0.06			
Genziana-Violetto	Yoo-Emerson		100-1000			

(Segue Tabella 1)

Sostanza saggiata	AUTORI	Attività amebicida – Terreno Colturale – Difasico	Attività amebicida – Terreno Colturale – Monofasico	Attività amebistatica – Terreno Colturale – Difasico	Attività amebistatica – Terreno Colturale – Monofasico	Inattività
Genziana-Violetto	Magaudda-Pennisi	$\frac{1803}{2913}$	225-714			
Jodoclorochina	Anastopulos		166			
Iodoftacina	Yoo-Emerson		100-1000			
Mercurocromo	Kofoid-Wagener	90				
Metilblue	Yoo-Emerson		100-1000			1000
Metil-arancio	Yoo-Emerson					
Metil-violetto	Magaudda-Pennisi	1071-1500	30-152			
Neomicina	Thompson	inattivo		1000		500
	Felsenfeld		73U		1400	
Nystatin	Seneca	250				
Novarsenobenzone	Kofoid-Wagener	7				2000
Oleandomicina	Thompson	inattivo		inattivo		
	Magaudda-Pennisi	2500	468-825			
Ossitetraciclina	Magaudda-Pennisi	100-307	10-38			
	Thompson	285		133		50
	Hansen-Bennett		200			
	Seneca	10				
	Nakamura-Anderson		100-200			
	Bradner-Rawson	1000	250			
	Phillips		400			
	Seneca	31-250				
	Balamuth		133			
	Lynch	125-250				
	Felsenfeld	11		2		
	Most-Van Assendelft	25000				
Pararosamilina	Yoo-Emerson		10-100			
Penicillina	Tutti gli AA.	inattiva				
Polimixina B	Nakamura-Anderson		400-1333			
	Magaudda-Pennisi	909-1538	212-333			
Polimixina D	Felsenfeld		1000			
Prelina	De Carneri	500	125			
Prodigiosina	Balamuth-Brent		2.5-10			
	Thompson			16		
	Balamuth		2.5			
	Felsenfeld		15			
Puromicina	Alba-Artigas		12			
	Thompson		63		13	8
Rosa Bengala	Yoo-Emerson		10-100			1000
Rosso Magdala	Yoo-Emerson					
Simarubidina	Phillips		50			
Stovarsolo	Kofoid-Wagener	11				
Spiramicina	Magaudda-Pennisi	+ 2500	806-1390			
Streptomicina	Per tutti gli AA.	inattiva				
Streptomicina	Thompson	667		33		17
Subtilina	Thompson		1000-1500		1500	
	Bradin-Hansen		1-2.5			
	Chin		2.5			
Sulfarsenobenz.	Kofoid-Wagener	3333				
Tetraciclina	Thompson	500		250	—	125
	Lynch	250				
	Seneca	62-250				
	Magaudda-Pennisi	227-770	19-127			
Thiocarbarsone o C. C. 914	Hansen-Bennett		50			

(*Segue Tabella 1*)

Sostanza saggiata	AUTORI	Attività amebicida		Attività amebistatica		Inattività
		Terreno Colturale		Terreno Colturale		
		Difasico	Monofasico	Difasico	Monofasico	
Thiocarbarsone	Balamuth		20-40			
Tiosemicarbazone	Gambardella		6250			
Tricomicina	De Carneri	40	15-30			
Verde Malachite	Yoo-Emerson					1000
	Magaudda-Pennisi	5375-12932	757-1490			
Verde Brillante	Magaudda-Pennisi	6900-8333	225-757			
Verde Naftolo	Yoo-Emerson		10-100			
Vioformio	Brackett-Bliznich	5				
	Hansen-Bennett		10			
	Nakamura-Anderson		20-50			
	Balamuth		100			
	Thompson		15-25		7.5-20	
	Bradin-Hansen		20-100			
	Bradner-Rawson	250	125			
Viridogriseina	Thompson	1333		667		333
Win 5047	Lynch	12.5				

SINONIMI: Anisomicina = Flagecidin; Carbomicina = Magnamicina; Eritromicina = Iloticina; Fumagillina = Fumidil; Glaucorubina = Simarubidina; Ossitetraciclina = Terramicina; PA 105 = Oleandomicina; PAA 701 = Biallylamicol = Camoform; Tetraciclina = Acromicina; Tiocarbarsone = C.C.N. 914; Yatren = Chiniofon; Win 5047 = Mantomide

sua resistenza appaia modificata; non ci risulta che, a tutt'oggi, tale problema sia stato studiato. E' opportuno riferire, a questo proposito, come in indagini volte a saggiare l'azione di alcuni antibiotici sulla flora batterica associata allo stipite di *E.histolytica* « Napoli » (già isolato da alcuni anni) Magaudda-Borzì e Pennisi abbiano constatato la resistenza di detto ceppo a concentrazioni di Caf pari a 500 gamma per cc. Dopo circa un anno, nel corso di nuove esperienze, lo stesso stipite dava per le altre sostanze gli stessi risultati delle prove precedenti, ma mostrava una resistenza a concentrazione di CAF pari a 2500 gamma per cc (vedi tabella 4).

Anche Seneca, lavorando con il ceppo « Gloria » e con la carbomicina, riporta di aver ottenuto risultati diversi in due prove successive: nella prima resistenza alla concentrazione del farmaco pari a 31,25 gamma per cc. mentre nella seconda alla concentrazione di 1000 gamma per cc. Oltre la scelta del ceppo è indispensabile tener conto del numero degli stipiti che sarebbe consigliabile adoperare nelle prove. Alcuni AA. usano un ceppo solo (Thompson; Hansen e Bennett; Nakamura, Hrenoff e Anderson; Fuller e Faust, etc.) altri invece due o più sino ad un massimo di undici (Seneca).

E' indubbio che come esistono ceppi dotati di patogenicità diversa (Neal-Vincent) ne possono, del pari, esistere altri che mostrano diversa resistenza ad uno stesso farmaco.

A questo proposito i dati della tabella 4 sono molto indicativi, e ad essi si può aggiungere una nostra osservazione, già esposta in una precedente nota (Magaudda e Pennisi). Lavorando, nelle stesse condizioni sperimentali, con quattro ceppi diversi di *E.histolytica*, abbiamo potuto, infatti, dimostrare una diversa sensibilità verso le sostange saggiate. Molto dimostrativa al riguardo anche l'osservazione di Seneca e Bergendahl: saggiando la carbomicina, l'ossitetraciclina e la tetraciclina su 5 stipiti di *E.histolytica* detti AA. mettono in evidenza una netta differenza di resistenza dei singoli ceppi; mentre per tre stipiti la carbomicina svolge attività amebicida a 1000 gamma, per uno la sensibilità sale a 500 gamma e per un altro a 125 gamma. Gli AA. fanno la stessa osservazione per l'ossitetraciclina e la tetraciclina, variando l'attività amebicida in rapporto agli stipiti usati, per la prima, da 31,25 gamma a 250 gamma e, per la seconda, da 62,5 a 250 gamma.

A risultati analoghi perviene De Carneri con quattro stipiti. Appare, pertanto, evidente l'utilità di saggiare lo stesso farmaco su più stipiti di *E.histolytica* onde poter avere un giudizio quanto più preciso sulla reale efficacia antiamebica della sostanza. Felsenfeld, ad esempio, fà la sua prova su cinque ceppi, di cui due coltivati da tempo in laboratorio e tre recentemente isolati da feci di dissenterici, e riporta indici di sensibilità ricavati dalla somma dei dati ottenuti dai cinque stipiti, senza specificare la sensibilità del singolo ceppo. E' comunque, da notare che non tutti gli AA. sono d'accordo sulla esistenza di una differenza fra stipite e stipite; così Lynch, saggiando quattro ceppi con anisomicina, riscontra identico comportamento mostrando la sostanza attività amebicida, per tutti e quattro, ad una concentrazione pari ad 1,56 gamma per cc.

Dalla rassegna della letteratura, possiamo, pertanto, concludere affermando che *a)* tutti i risultati ottenuti sembrano esser validi solo per i ceppi usati e non si può pertanto, generalizzare i risultati: *b)* solo l'uso di numerosi stipiti può dare un quadro esatto dell'attività amebicida delle sostanze in esame.

2) SCELTA DELLA FLORA BATTERICA ASSOCIATA.

Come è stato detto non si è riusciti ancora a coltivare *E.histolytica* in coltura pura e, pertanto, in tutti i terreni colturali troviamo la presenza di flora mono o polimicrobica. Alcuni AA usano associazioni polimicrobiche (Jones; Balamuth e Brent;

TABELLA 2

Variazione della concentrazione amebicida di varie sostanze in relazione alle prove eseguite in « aerobiosi » ed in « anaerobiosi ».
(Concentrazioni utili espresse in gamma × cc.)

Sostanza	AUTORI	Prove in: « aerobiosi »	Prove in: « anaerobiosi »
Acetarsone	Thompson	1500	1500
Actidione	Bradin-Hansen	0.1	0.1
	Nakamura-Anderson	0.1	0.1
Antibiotic « S »	Bradin-Hansen	5-10	5-10
Bacitracina	Bradin-Hansen	2	1000
	Nakamura-Anderson	2	1000
	Thompson	3000	4000
Carbarsone	Bradin-Hansen	500-2000	2000
	Nakamura-Anderson	500-2000	2000
Cloramfenicolo	Thompson (ceppo U. C.)	375	286
	(ceppo BNIH)	375	375
	Saito	25-50	400
	Bradin-Hansen	10	1000
Clorochina	De Carneri	500	1000
Clorotetraciclina	Bradin-Hansen	2	50
	Nakamura-Anderson	2	50
Emetina	Bradin-Hansen	10	10
	De Carneri	1	4
	Nakamura-Anderson	10	10
	Thompson (ceppo U. C.)	4.5	12
	(ceppo BNIH)	7.5	15
Ossitetraciclina	Nakamura-Anderson	10	200
Polimixina B	Nakamura-Anderson	400	1000
Prelina	De Carneri	125	125
Streptomicina	Bradin-Hansen	3333	5000
Subtilina	Bradin-Hansen	1-2	2.5
Tricomicina	De Carneri	15	30
Vioformio	Bradin-Hansen	25-100	20-100
	Nakamura-Anderson	25-100	20-100
	Thompson	15	25
Yatren	De Carneri	250	250

TABELLA 3

Variazione della concentrazione amebicida di varie sostanze in relazione al tempo di contatto.

AUTORI	Sostanza	Tempi di contatto										
		ore							giorni			
		1	2	5	16	24	30	48	3	5	9	14
Thompson	Actidione					2000		0.87				
	Anisomicina					1500		1.25				
Seneca	Cloramfenicolo					400		250				
Hewitt-Wallace	Aureomicina	1000						10				
	Emetina	1000						25				
St. John	Emetina (pHac)			775		100			50			
	Emetina (pHbs)							1		0.2		
De Carneri su *E. moshkovskii* a 37°C	Yatren		4000		1000	250		250		62	62	62
	Carbarsone		4000		1000	1000		1000		250	62	31
	Clorochina						10.000	2500		310	310	310
	Pirimetamina		2000		1000	1000		1000		1000	500	62
	Diidrostreptomicina							20.000		20.000	20.000	20.000
	Penicillina									20.000	20.000	20.000
	Bacitracina	+	20.000			10.000		10.000		5000	5000	5000
	Eritromicina	+	10.000		2500	2500		2500		2500	2500	1250
	D(—)Trecloramfenic.				1000	1000		1000		500		500
	L(+)Trecloramfenic.				1000	1000		1000		1000	500	500
	Clorotetraciclina		500		125	125		62		62		62
	Ossitetraciclina		4000		500			250			125	125
	Tetraciclina		4000					250		125	62	62
	Tricomicina		1000		31	16		16		8		4
	Emetina							1000		250	62	4
	Fumagillina							50		50		50

McCowen e altri; Thompson e altri; De Carneri; Lynch; Felsenfeld; Hewitt, Wallace e White; Anastopulos e Birch; Buonomini e coll.; Magaudda e Pennisi); altri AA. monobatteriche, ma il germe scelto è il più vario: così Abba, Artigas e Otto coltivano *E.histolytica* in simbiosi con *Escherichia freundi*, Nakamura, Hrenoff e Anderson con uno streptobacillo, Seneca con *Escherichia coli*, *A.aerogenes* oppure *Clostridium perfrigens*, Balamuth con *A.aerogenes*, Dobell con *E.coli*. Molti AA. (Hansen e Bennett; Nakamura e Anderson; Seneca; Lynch e altri; Brackett e Bliznich; Gould e Hansen; Chin), usano « l'organismo T », uno streptobacillo che permette da solo la coltivazione di *E.histolytica* (Rees e Readon 1941). Phillips nel 1950 rese noto che l'associazione con *Trypanosoma cruzi* dà ottimi risultati nella coltivazione di *E.histolytica* e da allora numerosi altri AA. hanno impiegato tale metodo (Bradner e Rawson; Nakamura; Anderson e Hrenoff; Nakamura; Phillps; Anderson ed altri). Occorre, inoltre, ricordare i lavori di Shaffer e Biegeleisen che hanno usato un terreno precondizionato dalla crescita di uno streptobacillo, tolto per centrifugazione prima dell'inoculo delle amebe. Tale tecnica è stata pure adoperata con successo da McCowen e coll. (1951-54), da Fuller e Faust e successivamente è stata, in parte, ripresa da Nakamura che ha eseguito ricerche con un terreno bifasico in presenza di penicillina (1956) (vedi De Carneri). Dobell, fin dal 1926, si è mostrato contrario all'uso di ceppi di *E. histolytica* associati a flora mista, specie se sconosciuta. Dall'esame dei risultati riportati dai vari AA. si può effettivamente affermare che un ceppo di *E. histolytica* associato a flora polibatterica mostra una minore sensibilità ai farmaci (Balamuth e Brent) rispetto allo stesso ceppo associato ad una sola specie batterica.

Quantunque sembri che altri AA. non abbiano trovato particolare differenza (Lynch, Thompos, Felsenfeld) attualmente si tende, però, ad usare per le prove di amebicidia ceppi di *E. histolytica* associati a *T. cruzi*.

Anche noi siamo dell'avviso che, fino a quando non si riuscirà a coltivare *E. histolytica* in coltura pura sia, là dove possibile, più consigliabile non adoperare ceppi

TABELLA 4

Variazione della concentrazione amebicida di varie sostanze in relazione agli stipiti di E. histolytica *usati (Concentrazioni amebicide rapportate a gamma/cc.).*

AUTORI	Sostanza	ceppi			
Balamuth		NRS+*A.aerogenes*	NRS+fl.mista		
	Carbarsone	4	4		
	CCNO 914	20	40		
	Clorotetraciclina	200	+200		
	Emetina	0.5-1	4		
	Prodigiosina	2.5	—		
	Viofromio	100	100		
Balamuth - Brent		NRS+*A.aerogenes*	UC+fl.mista		
	Prodigiosina	2.5	10		
De Carneri		EdM+ fl.mista	F22+ fl.mista	Meah+ fl.mista	VI+ fl.mista
	Yatren	500	500	1000	500
	Carbarsone	250	1000	500	250
	Chloroquine	2500	310	5000	625
	Pirimetamina	500	500	2000	250
	Diidrostreptomicina	+20000	+20000	+20000	+20000
	Penicillina	20000	+20000	20000	20000
	Bacitracina	10000	10000	10000	20000
	Eritromicina	5000	5000	5000	5000
	D(—)treo-Cloramfen.	1000	1000	1000	500
	L(+)treo-Cloramfen.	1000	1000	1000	1000
	Clorotetraciclina	32	64	64	125
	Tetraciclina	125	250	125	250
	Tricomicina	8	32	16	+1000
	Emetina	3	12.5	25	12.5
	Fumagillina	25	12.5	12.5	3
	Ossitetraciclina	125	125	125	125
Lynch		F22+	103+	NIH-200+	I-I+
	Anisomicina	1,56	1.56	1.56	1.56
Magaudda - Borzi Pennisi		Napoli+ fl.mista	Ambur.+ fl.mista	EdM+ fl.mista	Lero+ fl.mista
	Acromicina: d	227	470	336	770
	m	19	27	27	127
	Bacitracina: d	+7800	+7800	+7800	+7800
	m	1190	2300	2300	3380
	Cicloserina: d	+2500	+2500	+2500	+2500
	m	273	443	333	655
	Cloramfenicolo: d	+2500	+2500	+2500	+2500
	m	379	565	470	610
	Colimicina: d	18520	30000	37800	37800U
	m	2662	1910	2662	7460U
	Oleandomicina: d	+2500	+2500	+2500	+2500
	m	468	789	789	825
	Polimixina B: d	909	1500	1500	1538
	m	212	240	277	333
	Spiramicina: d	+2500	+2500	+2500	+2500
	m	806	937	1176	1390
	Terramicina: d	100	280	181	307
	m	10	17	19	38
	Acriflavina: d	755	1000	1500	1000
	m	30	60	152	60

(Segue Tabella 4)

AUTORI	Sostanza		ceppi: Napoli+ fl. mista	Amburgo+ fl. mista	EdM+ fl. mista	Lero+ fl. mista
Magaudda - Borzi Pennisi	Metilvioletto:	d	1071	1500	1500	1500
		m	30	152	152	152
	Verde brillante:	d	6900	8333	7547	7547
		m	225	757	757	757
	Verde malachite:	d	5375	12932	7547	7547
		m	757	2898	1490	1490
	Viol. genziana:	d	1803	2857	2913	2370
		m	225	714	714	580

AUTORI	Sostanza	*E.h.* + org. T	*E.h.* + *T.cruzi*
Nakamura - Anderson	Clorotetraciclina	50	75-100
	Actiodione	1	0.75-0.50
	Polimixina B	1000	1000-1500
	Bacitracina	1000	2000-3333
	Carbarsone	2000	1000-1250
	Emetina	10	10
	Ossitetraciclina	200	200
	Vioformio	20-100	40-50

AUTORI	Sostanza	Casablanca	Gloria	F22	103T	116T	200T
Seneca - Ides . .	Carbomicina	125	31.25	31.25	62.5	125	31.25

AUTORI	Sostanza	Columbia	Gloria	Korea	E. h. + Coli	E. h. + Aer.
Seneca - Bergendahl	Carbomicina	1000	1000	1000	125	500
	Ossitetraciclina	125	125	250	31.25	125
	Tetraciclina	125	62.5	250	—	125

AUTORI	Sostanza	Luna	F22	NIH103
Shaffer - Biegeleisen	Cloramfenicolo	140	140	140
	Clorotetraciclina	59	59	29

AUTORI	Sostanza	U. C. (aerob.)	BNIH (aerob.)	U. C. (anaer.)	BNIH (anaer.)
Thompson . . .	Cloramfenicolo	375	375	286	375
	Emetina	4.5	7.5	12	15

AUTORI	Sostanza	U. C.	NIH-200
Thompson . . .	Emetina	10	+20
	Biallylamicol	40	100

con flora polimicrobica o monomicrobica (non sapendo quanto i batteri possano interferire col farmaco: eventuale azione indiretta), ma ricorrere a stipiti di *E. histolytica* associati a *T. cruzi*, protozoo, quest'ultimo, che, secondo l'esperienza di Phillips, Nakamura, Anderson e altri, non risente dell'azione di sostanze a concentrazioni amebicide (era noto da tempo che *T. cruzi* è insensibile ai chemioterapici (Kofoid, McNeil e Wood, 1937; von Brand, Johnson e Rees, 1946). Se però si deve saggiare un farmaco su stipiti di *E. histolytica* associati a flora batterica è bene ricorrere a flora monobatterica, insensibile al farmaco in esame, al fine di evitare l'azione indiretta.

3) TERRENI DI COLTURA.

Dopo che Boeck e Drbohlav (1924) prepararono il primo terreno di coltura, sono stati proposti altri numerosi terreni, più o meno complessi, per la coltivazione routi-

naria di *E. histolytica*. Per le prove di amebicidia *in vitro* si adoperano, oggi, terreni difasici e monofasici alcuni dei quali molto complessi nella loro composizione. Nella tabella 1 appare evidente la notevole differenza dei risultati, ottenuti con la stessa sostanza e con lo stesso ceppo, usando, però, terreno difasico o monofasico.

Fin dal 1926 Dobell e Laidlaw, saggiando l'azione dell'emetina in un terreno difasico, premettevano di ritenere la loro tecnica di saggio non esente da critiche. Nel 1928 Laidlaw, Dobell e Bishop dimostrarono che l'emetina aggiunta ad un terreno difasico, del tipo Boeck e Drbohlav, viene ad essere distribuita inegualmente nel terreno passando lentamente dalla parte liquida nella parte solida; pertanto, la concentrazione del farmaco nella fase liquida è instabile, diminuendo progressivamente e falsando, così, la sua reale attività amebicida. Riscontrarono, inoltre, che tale distribuzione varia con la natura della parte solida, del pH e del tempo di incubazione per cui concludevano essere impossibile determinare la reale attività amebicida dell'emetina in terreni difasici. Dello stesso parere sono recentemente Balamuth, Bradner e Rawson che, riportando i dati comparativi fra un terreno difasico e uno monofasico, notano profonde differenze (vedi Tabella 1).

Anche Thompson e coll. (1950), confrontando l'attività del CAF su due ceppi di *E. histolytica* in terreno difasico e monofasico, misero in evidenza la notevole differenza di resistenza delle amebe: in terreno difasico i due ceppi erano inibiti nella crescita da concentrazioni di CAF pari a 1500-2000 gamma, mentre in terreno monofasico venivano inibiti da concentrazioni di gran lunga inferiore: 286-375 gamma (vedi Tabella 1). Nonostante le osservazioni succitate diversi AA. (Muhlpfordt e Martinez-Silva; Lynch; Seneca; Seneca e Ides; Seneca e Bergendahl; Brachett e Bliznich; Nakamura; Spingarn e Edelman; Hewitt, Wallace e White; Anderson e Churan; Ishii) continuano ad adoperare terreni difasici, ottenendo, qualche volta, risultati eguali o quasi a quelli di altri ricercatori che hanno adoperato terreni monofasici. Per es., per quanto riguarda l'anisomicina, Lynch e coll. usando un terreno difasico, danno come amebicida una concentrazione di 1,56-1,9 gamma per cc., mentre Thompson e coll., usando un terreno monofasico, 1,25 gamma per cc.

Un altro problema, non abbastanza considerato, nella scelta dei terreni riguarda la loro composizione qualitativa. E' noto come molti AA., nel mettere a punto nuovi substrati colturali, si siano proposti il fine di agevolare nel miglior modo possibile la crescita del protozoo, per cui hanno aggiunto le sostanze nutritive più diverse: sali minerali, vitamine, aminoacidi, colesterolo e quante altre giudicate utili alla crescita dell'ameba (per maggiore conoscenze vedi Buonomini e coll.).

Non solo i terreni difasici, ma anche i terreni monofasici sono, a volte molto complessi, potendo contenere siero (Dobell, Jones), lievito (Pavlova), proteine (Thompson e coll.), mucina (Thompson), estratto di fegato (Thompson). Molto adoperato il terreno di Balamuth a base di infuso di tuorlo di uovo più fegato (Felsenfeld e coll.; Alba, Artigas e Otto; Thompson e coll., Balamuth e Brent) e quello di Hansen a base di estratto di fegato e proteose-peptone (Gould e Hansen; Nakamura, Hrenoff; Anderson).

Se questo è logico quando si voglia procedere alla coltivazione di *E. histolytica* non altrettanto ci sembra quando ci si proponga di saggiare, in questi terreni, la attività amebicida d'una sostanza. Non sappiamo, infatti, quando si studia *in vitro* l'azione di una determinata sostanza, se essa può combinarsi con qualche costituente del terreno, diminuendo, in tal modo, la sua attività e falsando la sua reale efficacia, o portare altre modificazioni di ordine biochimico. Partendo da tali presupposti abbiamo messo a punto un terreno monofasico, che pur consentendo la vita e la normale riproduzione di *E. histolytica*, è quanto mai semplice, come risulta dalla seguente formula:

soluzione di Locke	parti 7
siero di cavallo inattivato	parti 1
tracce di riso deproteinizzato.	

Tale terreno è stato già usato in alcune ricerche (Magaudda e Pennisi, 1959), con risultati di notevole interesse: le concentrazioni utili delle varie sostanze sono state, infatti, sempre inferiori a quelle necessarie nei terreni difasici e a molti degli stessi terreni monofasici di costituzione più complessa (vedi Tabella 4).

Appare, pertanto, evidente l'utilità di usare terreni monofasici e tra questi è senz'altro consigliabile ricorrere a quelli di più semplice costituzione (terreno di Magaudda e Pennisi).

4) Coltivazione in aerobiosi e anaerobiosi

Occorre premettere che il problema se *E. histolytica* debba considerarsi un protozoo aerobio o strettamente anaerobio deve ancora essere chiaramente definito. In genere si considera essere condizione favorevole alla sua coltivazione uno stato di semi-anaerobiosi e un basso potenziale ossido-riduttivo (Chang, 1946) che permette, anche quando la flora microbica è inibita dalla azione batteriostatica del farmaco, la sopravvivenza delle amebe. Per mantenere le amebe in condizioni anaerobiche sono state usate diverse sostanze: Bradin e Hansen (1950) il « melted petrolatum » adoperato anche da Hansen; Hansen e Bennett; Gould e Hansen; Nakamura e Anderson; Balamuth (1953) un miscuglio di « Melted petrolatum » e paraffina denominato « Vaspar »; Nakamura, Hrenoff e Anderson (1953) l'acido pirogallico; Thompson e coll. un'atmosfera satura di CO_2; De Carneri olio di vasellina; Saito un terreno contenente l-cisteina, tioglicollato di sodio e tubi coperti da paraffina.

Dall'esame dei risultati ottenuti saggiando l'attività amebicida di una stessa sostanza su *E. histolytica* coltivata in condizioni aerobiche ed anaerobiche (vedi Tabella 2), appare evidente come vi sia spesso una differenza notevole tra la concentrazione amebicida di una medesima sostanza saggiata nelle condizioni suddette e come quasi sempre il farmaco si dimostri più attivo se saggiato in aerobiosi. In qualche caso la sostanza può mostrare attività amebicida in concentrazione identica nelle due metodiche di ricerca, ma mai si dimostra più attiva in anaerobiosi. Qualche Autore, Balamuth (1953), in base alla propria esperienza, sostiene che sia preferibile la coltivazione in aerobiosi, eccetto i casi in cui esiste una chiara inibizione della flora batterica associata da parte del farmaco, come si verifica con l'aureomicina. Lo stesso A. sostiene che la coltivazione in anaerobiosi deve essere applicata con cautela dato che l'uso del « Vaspar » può abbassare il pH, deprimere l'attività di sostanze come l'emetina e nel medesimo tempo inibire la crescita di batteri aerobi come *E. coli* germe utile alla crescita di *E. histolytica*.

Si potrebbe, da un lato, pensare che la minore concentrazione amebicida di farmaco occorrente in condizioni di aerobiosi, sia da imputare ad uno scarso adattamento di *E. histolytica* al particolare ambiente: l'aggiunta dell'antibiotico, alterando i rapporti simbiotici tra batteri e protozoo, porterebbe più rapidamente a morte quest'ultimo. D'altro canto in nessun terreno di coltura per le amebe si hanno condizioni aerobiche perfette, e vi è, ancora, da tener presente che in condizioni di anaerobiosi si pongono in stato di inferiorità i batteri aerobi simbionti. Il problema della scelta della esecuzione delle prove in aerobiosi o in anaerobiosi resta pertanto ancora aperto in attesa d'una più profonda conoscenza della biologia di *E. histolytica*: accettando però i dati forniti dalla maggioranza dei ricercatori sarebbe consigliabile eseguire le ricerche in aerobiosi.

5) Tempo di contatto, influenza del pH e del POR.

Il tempo di contatto tra colture di *E. histolytica* e sostanze saggiate varia secondo gli AA.; abitualmente esso oscilla intorno alle 48 h. Ma alcuni ricercatori adottano un tempo diverso: Brachett e Bliznich (1947) 96-120 h; Mulpfordt e Martinez-Silva (1956) giungono fino a 336 h col rinnovo della fase liquida del terreno culturale; Hansen e Bennett (1952) da 5 a 24 e 48 h; Kofoid e Wagener (1925), St. John (1933), Thompson e coll. (1956) 24 h e così pure Bradner-Rawson (1951), usando un terreno monofasico. Dobell usa un tempo di contatto di 96 h e così pure Alba, Artigas e Otto (1955, Jones (1952) e Felsenfeld e Young. Hewitt-Wallace e White (1950) adoperano due tempi diversi: uno di 48 h ed un'altro oscillante tra 10 e 60' con differenti risultati: confrontando l'efficacia dell'aureomicina e dell'emetina, dopo 48 h, notano che le due sostanze sono attive, la prima alla diluizione di 1/100.000 la seconda alla diluizione di 1/40.000; dopo 60' l'aureomicina è efficace solo a 1/1000, mentre l'emetina, alla stessa diluizione, non presenta alcuna attività amebicida. Anche altri antibiotici quali streptomicina, bacitracina, cloramfenicolo, chiniofon, sempre secondo i suddetti AA., non presentano alcuna attività amebicida alla diluizione di 1/1000, dopo un tempo di contatto di solo 60 minuti.

Anche altri AA. hanno riscontrato tale fenomeno: interessanti e degne di menzione le osservazioni riferite da Thompson e coll. (1956): l'actidione, dopo 24 h di contatto con *E. histolilyca*, non mostra apprezzabile attività amebicida essendo efficace solo a concentrazioni superiori ai 2000 gamma, mentre dopo 48 h di contatto si rivela amebicida alla concentrazione di soli 0,87 gamma; lo stesso comportamento presenta l'anisomicina con attività amebicida a 1500 gamma alla 24ª ora, e a soli 1,25

gamma dopo 48 h (vedi Tabella 3). Anche Seneca riporta alcuni dati riguardanti il cloramfenicolo che presenta attività amebicida a 250 gamma dopo 48 h e a 400 gamma dopo 24 h. Kakamura, Hrenoff e Anderson, volendo saggiare l'attività di alcuni farmaci, hanno studiato, al Warburg, il metabolismo di *E. histolytica* dopo un contatto di 70' concludendo che vi sono sostanze, come l'emetina, che agiscono prontamente e altre, come la fumagillina, più attiva dell'emetina, che hanno, però, azione più lenta. L'azione amebicida di alcune potrebbe, in tal modo, non essere rilevabile a causa della loro lenta azione.

Tale concetto è stato anche sottolineato da De Carneri nei suoi lavori sull'argomento; mentre, infatti, secondo detto A., la tricomicina e la aureomicina portano le amebe a morte entro poche ore, l'emetina e la fumagillina appaiono inattive durante il primo giorno di contatto e rivelano la loro attività solo durante il secondo giorno. L'A. è portato, pertanto, ad affermare che una lettura eseguita dopo solo 24 h porterebbe a scartare tutta una serie di composti ad azione antiamebica lenta ma non per questo meno interessante. Anche St. John (1953), saggiando l'emetina su tre ceppi di *E. histolytica*, nota che l'azione amebicida si esplica alla concentrazione di 1/1.000.000 dopo due giorni e 1/5.000.000 dopo quattro giorni in un terreno alcalino

D'altro canto Thompson e coll. (1956) sostengono come sia necessario un periodo di contatto di 24 h, malgrado le osservazioni contrastanti fatte con l'actidione e la anisomicina, in quanto, solo in tal modo, si eviterebbe «l'azione indiretta» che la sostanza può esplicare agendo sulla flora batterica concomitante. Dello stesso parere sono Hewitt, Wallace e White, in accordo con Balamuth, in quanto saggiando l'aureomicina per 48 h hanno messo in evidenza la somma di un'attività amebicida *diretta* su *E. histolytica* e di una *indiretta* per azione sulla flora batterica associata.

Il Phillips usa un suo metodo di controllo (*E. histolytica* con *T. cruzi*) inoculando col micromanipolatore in ogni tubo un'ameba e osservando lo sviluppo colturale dopo 24, 48 e 72 h. Spingarn e Edelman, onde ovviare all'inconveniente della possibile attività indiretta per azione sulla flora batterica, hanno proposto un loro metodo particolare: pongono la sostanza in esame a contatto con le amebe per un'ora, dopodiché procedono al lavaggio ripetuto mediante centrifugazione e controllano per 14 gg. lo sviluppo delle subcolture eseguendo il conteggio delle amebe. Eseguendo in parallelo prove similari, in cui la sostanza viene, però, lasciata agire per tutta la durata della esperienza, ritengono di poter valutare, dalle differenze di sviluppo tra le due prove, l'efficacia diretta della sostanza sulle amebe e quella indiretta per azione sulla flora simbiotica.

Appare, pertanto, evidente l'importanza del problema, che merita attenta conoscenza onde evitare errori dovuti alla difficoltà di poter sceverare il fattore tempo di esposizione dal fattore velocità di azione. I due fattori s'integrano, infatti, a vicenda e su di essi giuocano, inoltre, un ruolo importante il pH e il potenziale ossido-riduttivo (POR). Altri fattori, non meno essenziali, sono presi in considerazione in altre parti del presente lavoro, quali: la temperatura, la qualità del ceppo in esame e la conoscenza della sostanza stessa.

Fin dal 1928 Laidlaw, Dobell e Bishop notarono l'importanza del pH nell'influenzare l'attività amebicida dell'emetina; infatti essa in ambiente alcalino è più attiva che non in ambiente acido. Alle stesse conclusioni arrivò St. John (1933) dimostrando che nel terreno a pH acido l'emetina era amebicida alla diluizione di 1/10.000 dopo 24 h; di 1/20.000 dopo 3 giorni e di 1/50.000 dopo 5 giorni mentre in ambiente alcalino mostrava attività amebicida alla diluizione di 1/1.000.000 dopo 2 giorni e di 1/5.000.000 dopo 4 giorni.

Tale osservazione è stata anche recentemente confermata da Dobell (1947), da Balamuth, Balamuth e Lasslo (1952) e da McConnachie (1953) in prove *in vitro* su *Entamoeba invadens*.

L'influenza del pH deve essere valutata in relazione alle sostanze adoperate in quanto il ruolo dimostrato sull'emetina non è altrettanto evidenziabile su altri farmaci. Così, ad esempio, Hewit-Wallace-White (1950) notano che differenti pH non influenzano l'attività dell'aureomicina.

Il potenziale ossido-riduttivo è uno dei requisiti fondamentali per la crescita e la vitalità di *E. histolytica in vitro*. Chang (1946) sostiene che *E. histolytica* debba crescere in condizioni di potenziale ossido-riduttivo basso (negativo), assieme ad una flora batterica associata, atta a mantenere tale, con il suo metabolismo, il potenziale. Detto A. valuta l'optimum tra il —350 e —425 mv, Iacobus (1941) tra —300 e —500 mv, Bradin e Hansen (1950) considerano sufficiente un potenziale di —200

mv e dimostrano che i farmaci, agendo con meccanismo batteriostatico sulla flora batterica associata, dando luogo alla sequenza: inibizione batterica → potenziale O/R positivo → morte delle amebe.

Secondo i suddetti Autori le sostanze amebicide possono dividersi in tre gruppi: 1) farmaci che esplicano azione diretta sulle amebe; 2) farmaci che esplicano azione primaria diretta sulla flora batterica associata e secondaria indiretta su *E. histolytica;* 3) farmaci che esplicano azione combinata diretta ed indiretta.

Balamuth (1953) e Balamuth e Brent (1950) confermano tali risultati; così, l'emetina, al pari della prodigiosina, che, a concentrazioni amebicide non inibisce la flora batterica, lascia il potenziale O/R negativo; mentre l'aureomicina, inibendo la flora batterica, eleva il potenziale O/R con conseguente morte delle amebe (sostanza ad azione indiretta).

Per ciò che riguarda la temperatura, infine, vi è uniformità di indirizzo legata agli stretti limiti consentiti da *E. histolytica*. De Carneri lavorando su *E. moshkovskii* a tre diverse temperature (4°C, 26°C, 37°C) nota come le sostanze saggiate siano meno attive a +4°C e aumentino la loro attività progressivamente a 26°C e a 37°C. Egli nota a 26°C un certo parallelismo con l'attività esplicata dalla sostanza su *E. invadens* e a 37°C con quella esercitata su *E. histolytica*. Resta pertanto confermato, anche da tali osservazioni, l'utilità e la necessità di usare una temperatura di 37°C.

Dall'insieme dei dati e delle ipotesi sopra menzionate ci sembra possibile affermare che il tempo indicato di 48 h sia il più utile per rilevare anche l'azione amebicida ritardata di una sostanza su *E. histolytica*. Ma è sempre necessario, in tal caso, poter rilevare con prove comparative un'azione indiretta per inibizione della flora batterica. La valutazione precisa delle zone di pH a cui la sostanza agisce è strettamente indispensabile al pari di quella delle variazioni del POR. Tale valutazione può essere fatta con prove in bianco escludendo di volta in volta uno degli elementi.

Non riteniamo attendibile la tecnica proposta da Spingarn e Edelman, giacché, da un lato, le numerose centrifugazioni e, dall'altro, gli errori legati ai conteggi potrebbero facilmente portare a conclusioni errate.

6) QUANTITÀ DI TROFOZOITI INOCULATI NEI TERRENI DI COLTURA.

Ogni A. usa una quantità scelta con criterio proprio: Lynch e Thompson un inoculo di 30.000 trofozoiti/cc.; Seneca e Bergendahl di 50.000; Seneca, Ides, Balamuth e Brent di 100.000; Thompson (1950) di 150.000. De Carneri di 200.000; Nakamura e Anderson (1951) di 300.000; Nakamura, Hrenoff e Anderson di 2.000.000, ed, infine, Phillips, col suo metodo di coltivazione in microtubi, mette una sola ameba per ogni inoculo.

Balamuth (1953) sostiene l'importanza del numero delle amebe e riporta alcuni dati che confermano la sua asserzione, come risulta dalla seguente tabella.

Importanza della quantità di trofozoiti inoculati nel terreno di coltura per le prove di amebicidia con varie sostanze (da Balamuth).

Ceppi di amebe	Sostanze punto finale/γ/cc	Inoculo amebe (x 10³)	Esito
Dientamoeba (Bi)	Emetina 100	330 1.040	morte vive
E. histolytica (NRS + *A. aerogenes*)	Aureomicina 100	123 260	morte vive
E. coli (Jo)	Auremicina 200	150 310	morte vive
E. coli (Jo)	Prodigiosina 2	70 200	morte vive

Thompson, studiando l'anisomicina adopera due inoculi diversi (uno di 30.000 e l'altro di 7.500 amebe per cc.) senza dare, invece, eccessiva importanza al numero di trofozoiti.

Della stessa opinione sono Hansen e Bennett, i quali sostengono che la concentrazione amebicida di una sostanza non è influenzata dal numero di amebe dell'inoculo; in tre prove eseguite con emetina alla stessa dose ma con inoculi diversi di 125.000, 138.000 e 202.000 trofoizoiti per cc. ottennero, infatti, lo stesso punto finale di amebicidia. In presenza di aureomicina alla diluizione di 1/200.000 in cultura anaerobica si ebbe una sopravvivenva di amebe dopo 48 h usando indifferentemente inoculi di 21.000 e 336.000 trofozoiti per cc. Anche Balamuth e Brent riferiscono che saggiando l'attività della prodigiosina su *E. histolytica* ebbero il medesimo punto finale di amebicidia con inoculi varianti da 17.000 a 251.000 UT/cc.

Non esistono altri dati sull'argomento e, indubbiamente, ricerche sistematiche sarebbero oltremodo utili. Allo stato attuale non è possibile prendere una posizione definitiva sulla reale importanza del quantitativo di trofozoiti da inoculare nei terreni di coltura, pur potendo supporre, in accordo con Balamuth, che variando la quantità di inoculo dovrà, con ogni probabilità, variare il grado di vitalità del ceppo in esame.

7) VALUTAZIONE DELL'ATTIVITA' AMEBICIDA.

Il criterio di valutazione dell'attività amebicida di una sostanza varia secondo gli AA.. La maggior parte si basa sulla determinazione della concentrazione minima sterilizzante. Saito; Balamuth e Brent; Bradner e Rawson; Magaudda e Pennisi; Dobell; Hewitt, Wallace e White; Lynch e coll.; Hrenoff e Nakamura; Nakamura e Anderson; Seneca e Ides; Seneca e Bergendahl; Spingarn e Edelman; usano eseguire subcolture dalle colture dubbie o negative per un maggior controllo

Hansen e Bennett ritengono che non basta l'osservazione microscopica della presenza o meno di amebe, giacché il reperto di amebe, anche se vitali, non significa, secondo detti AA., inefficacia della sostanza a quella concentrazione. Eseguendo le subcolture (dopo un contatto per 24 h con emetina, tioarsenito o vioformio) da elementi vitali, queste risultarono, infatti, dopo 48 h, negative. Inoltre riportano le osservazioni di Brackett e Bliznich (1947) i quali, pur avendo notato apparente vitalità dei trofozoiti trattati con emetina e vioformio per 24 h, ebbero, tuttavia subcolture negative.

Felsenfeld e Young usano per la determinazione dell'attività amebicida della sostanza un conteggio delle amebe prima e dopo contatto per 4 gg. a 37°C, ritenendo in tal caso di ottenere risultati migliori.

Thompson e coll. (1950) usano anch'essi una tecnica similare designando come amebicida la concentrazione che non consente una conta delle amebe e come batteriostatica quella che dà una riduzione di trofozoiti di 1/10 rispetto al numero di partenza. Altri AA. determinano la DL 50 (Anderson e Hansen citati da De Carneri) secondo Miller e Tainter.

Balamuth (1953) sostiene che una «zona di amebicidia» (mortalità totale più numero e condizioni morfologiche delle amebe) può dare una valutazione più esatta di quella basata sul 100% di mortalità dei trofozoiti e questo anche per fare un confronto specifico con i risultati di differenti AA.

Appare, pertanto, evidente come sia consigliabile che il controllo dell'azione amebicida venga eseguito costantemente con almeno due subcolture di controllo, subcolture che, ovviamente, dovranno essere sempre negative all'esame microscopico, dopo centrifugazione. La tecnica del conteggio secondo Thompson potrebbe essere accettata solo nel caso della valutazione del potere amebistatico.

8) POSSIBILITÀ DI ESEGUIRE LO «SCREENING» CON ALTRE SPECIE DI AMEBE, DIVERSE DA *E. histolytica*.

I primi AA. che ebbero l'idea di sfruttare per le prove *in vitro* altre specie di amebe più o meno vicine a *E. histolytica* furono Howitt F. B. (1926) e Dobell e Laidlaw (1926).

Il primo saggiò l'azione di alcuni farmaci e coloranti su *Entamoeba gingivalis* (Gros) in un terreno difasico.

Dobell e Laidlaw, nell'eseguire le loro ricerche sull'azione degli alcaloidi della ipecacuana su *E. histolytica* si valsero, come confronto, di altre specie di amebe: *E. coli; E. gingivalis; Endolimax nana* e constatarono che queste tre ultime specie sono meno sensibili di *E. histolytica* all'emetina.

Alla stessa conclusione arrivò pure Bishop (1929) che, usando *E. coli* riscontrò che, nelle prove con l'emetina, essa veniva uccisa da 3,3 gamma per cc. di sostanza

contro i 0,2 gamma sufficienti ad uccidere *E. histolytica* secondo i risultati di Laidlaw, Dobell e Bishop (1928).

Balamuth (1953) usa pure in alcune prove oltre *E. histolytica* due ceppi di *E. coli*, due di *Dientamoeba fragilis* e due di *E. nana*. Baksh (1936), (citato da De Carneri) usa *Amoeba proteus*. Dennis e coll. (1949) *Entamoeba criceti*. Le succitate specie di amebe, saggiate, in parallelo con *E. histolytica* con diverse sostanze, sopportano, in linea di massima, concentrazioni di farmaco superiori, mettendo in evidenza una minore sensibilità rispetto *E. histolytica*. I primi AA. che saggiarono l'emetina su *E. invadens* furono Rodhain e Van Hoof (1935). Successivamente Lamy e Chevrier (1948) provano in parallelo su *E. invadens* e su *E. histolytica* un composto sulfamidico che si dimostra attivo contro la prima ma non contro la seconda.

Ancora Quevauviller (1950) (citato da De Carneri); Bailenger, Troadec e Camelas (1953), saggiando la sensibilità dei protozoi all'azione dei detergenti, adoperano *E. invadens*.

Mc Connachie (1954) trova tale ameba meno sensibile di *E. histolytica* all'emetina probabilmente per differenze metaboliche e conclude affermando che *E. invadens* non può sostituire *E. histolytica* nelle prove *in vitro*.

Contro l'opinione di McConnachie stanno i lavori di Stam e Van Thiel (1956) che saggiando un prodotto di sintesi (T.H.P.) su *E. histolytica* e su *E. invadens* riscontrano uguale sensibilità alla diluizione di 1/15.000. Dello stesso parere è pure De Carneri (1957) che sperimentando con 16 farmaci sulle due specie di amebe trova un netto parallelismo, notando solo una maggiore lentezza d'azione sul parassita dei serpenti che va coltivato a 26°C.

Lo stesso De Carneri (1958), considerando *E. moshkovskii* Tshalaia 1941 come una possibile fase a vita libera di *E. histolytica*, ha studiato l'azione di 16 farmaci sui trofozoiti di questa ameba ed è arrivato alla conclusione che se le prove vengono eseguite a 26°C l'attività dei farmaci ricorda quella esplicata su *E. invadens* alla stessa temperatura, mentre a 37°C si accosta più all'azione esplicata, alla stessa temperatura, su *E. histolytica*.

Risulta evidente dai dati sopra riportati che nella quasi totalità dei risultati si ha una maggiore resistenza da parte delle altre specie di Entamoebe, e che, pertanto, le prove vanno sempre e costantemente condotte con *E. histolytica*.

CONCLUSIONI

I dati sperimentali e le conclusioni dei vari AA., da noi riportati, mostrano chiaramente la notevole difficoltà di ottenere elementi esattamente indicativi sull'attività amebicida di nuovi prodotti. Vi è da aggiungere che le prove *in vivo* non vanno esenti dalle stesse critiche di quelle *in vitro* ed in questo ultimo caso si aggiunge la reazione individuale degli animali sottoposti ad esperimento

Ci sembra, però, di poter ritenere che le prove *in vitro* possano dare risultati attendibili se i vari ricercatori adotteranno una metodica uniforme, studiando attentamente le modalità di esecuzione in rapporto alla sostanza da saggiare.

Riferendoci a quanto accennato durante la trattazione dell'argomento ci sembra possibile ed utile poter suggerire una metodica standard, che, a nostro parere, sarebbe quella che, meno di tutte le altre, potrebbe falsare i risultati.

Chiarito, anzitutto, che le esperienze vanno eseguite unicamente e solo su ceppi di *E. histolytica* riteniamo sia necessario:

1) eseguire le prove con almeno due sostanze di controllo (da scegliere tra emetina, aureomicina e clorochina) oltre quella da sottoporre in esame;

2) usare almeno quattro ceppi di *E. histolytica* possibilmente di differente provenienza geografica, due dei quali preferibilmente isolati di recente;

3) coltivare i ceppi con *T. cruzi* o, quanto meno, con flora monobatterica, scelta fra quella certamente insensibile all'azione della sostanza in esame;

4) usare un terreno monofasico quanto più semplice possibile (preferibilmente quello proposto da Magaudda-Borzì e Pennisi);

5) eseguire le prove in parallelo sia in aerobiosi che in anaerobiosi;

6) controllare i risultati dopo 48 h di permanenza a 37°C, dopo avere precedentemente studiato, con prove in bianco, la labilità della sostanza in esame ai vari pH e, di contro, l'azione della stessa sostanza sul pH del terreno;

7) eseguire inoculi ricchi non inferiori alle 100.000 UT/cc. per tubo;

8) valutare l'efficacia della sostanza in esame tramite almeno due subculture che risultino negative all'esame microscopico anche dopo centrifugazione (mortalità pari al 100%);

9) avviare, accanto alle prove con *E. histolytica,* alcune prove in bianco per valutare, sulla base del comportamento quantitativo della flora batterica, la possibile azione amebicida indiretta;

10) esprimere i risultati come media dei valori ottenuti dai vari ceppi presi in esame e riferiti in rapporto alla media di quelli delle due sostanze di controllo prese come base eguale ad 1. (Magaudda-Borzì e Pennisi).

Ci sembra, pertanto, di poter concludere affermando che solo una metodica standard quale quella da noi esposta potrà permetterci una valutazione precisa dell'attività amebicida delle sostanze saggiate e potrà darci risultati costantemente sovrapponibili.

BIBLIOGRAFIA

ADAMS A. R. D. (1952): *Practitioner, 168,* 419.

ALBA M., ARTIGAS J., OTTO J. (1955): *Bol. Chileno de Parasit., 10,* 9.

ANASTOPOULOS B., BIRCH C. L. (1950): *Am. J. Trop. Med., 30,* 59.

ANDERSON H. H. (1950): *Parasitic Infections in Man., 4,* 163 (N. Y. Ac. of Med.).

ANDERSON H. H., ANDERSON J. van D. (1950): *Am. J. Trop. Med., 30,* 193.

ANDERSON H. H., CHANG Y. T. (1953): *Stanford Med. Bull., 11,* 41.

ANDERSON H. H., CHURAN T. T. (1944): *Am. J. Trop. Med., 24,* 367.

ANDERSON H. H., HANSEN E. L. (1947): *Encycl. of Chem. Technol., 1,* 656. Intersc. Encycl. Inc. N. Y.

ANDERSON H. H., HANSEN E. L., SAH P. P. T., CAFISIO S. R. (1947): *J. Pharm. Exper. Therap., 91,* 112.

ANDERSON H. H., HRENOFF A., ANDERSON J., NAKAMURA M., CONTOPOULOS A. (1952): *Am. J. Trop. Med. Hyg., 1,* 552.

ANDERSON H. H., JOHNSTONE H. S., HANSEN E. L. (1947): *Am. J. Trop. Med., 27,* 153.

BAILENGER J., TROADEC J., CANELAS J. (1953): *Arch. Sci. Physiol., 7,* 355.

BAKHSH J. (1936): *J. Pharm. Exper. Therap., 58,* 373.

BALAMUTH W. (1948): *J. Parasitology, 34,* 11.

BALAMUTH W. (1952): *Ann. N. Y. Acad. Sci., 55,* 1093.

BALAMUTH W. (1953): *Am. J. Trop. Med. Hyg., 2,* 191.

BALAMUTH W. (1955): *Antibiot. Med., 1,* 625.

BALAMUTH W., BRENT M. M. (1949): *J. Parasitology (suppl.), 35,* 23.

BALAMUTH W., BRENT M. M. (1950): *Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 75,* 374.

BALAMUTH W., LASSLO A. (1952): *Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 80,* 705.

BALAMUTH W., THOMPSON P. E. (1955): *Bioch. Phys. of Prot., 2,* 277.

BALAMUTH W., WIEBOLDT B. (1946): *J. Parasitology (suppl.), 32,* 10.

BARRISS H. (1954): *Gastroenter., 27,* 81.

BIEGELEISEN J. Z., SHAFFER J. G. (1951): *Am. J. Hyg., 53,* 146.

BISHOP A. (1929): *Parasitology, 21,* 481.

BOECK W. C., DRBOHLAV J. (1925): *Am. J. Hyg., 5,* 371.

BOECK W. C., MORETTI G. F., GUIGNARD J. (1950): *Bull. Soc. Path. Exhot., 43,* 37.

BONNIN H., MORETTI G. F., GUIGNARD J. (1950): *Bull. Soc. Path. Exthot., 43,* 41.

BRACKETT S., BLINICK A. (1947): *J. Parasitology, 33,* 154.

BRADIN J. L., HANSEN E. L. (1950): *Am. J. Trop. Med., 30* ,27.

BRADNER T. W., RAWSON G. W. (1951): *Science, 113,* 674.

VON BRAND T., JOHNSON E. M., RESS C. W. (1946): *J. Gen. Phys., 30,* 163.

BRISTOV N. W., OXLEY P., WILLIAMS G. A. H., WOOLFE G. (1956): *Trans roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 50,* 182.

CAPOCACCIA L. (1956): *Arch. It. Sc. Med. Trop. Par., 37,* 367.

CHANG S. (1946): *Parasitology, 37,* 101.

CHIN Y. (1947): *Fed. Proc., 6.* 317.

CLAYTON J. P. jr., BALL G. H. (1954): *J. Parasitology, 40,* 347.

CONAN N. J. (1948): *Am. J. Trop. Med., 28,* 107.

CONN H. J. (1946): *Biotech Publications Geneva N. Y.,* p. 99.

COSAR C. (1952): *Bull. Soc, Path, Exhot., 45,* 782,

CUCKLER A. C., SMITH C. C. (1949): *Fed. Prooc.*, *8*, 284.
DA SILVA L. S. (1958): *Proc. Alumni. Ass. Malaya*, *11*, 11.
DE CARNERI I. (1956): *Il Farmaco*, *11*, 926.
DE CARNERI I. (1957): *Il Farmaco*, *10*, 449.
DE CARNERI I. (1957): *Riv. di Parassitol.*, *18*, 133.
DE CARNERI I. (1958): *Giorn. Mal. Inf. Parass.*, *10*.
DE CARNERI I. (1958): *Arch. Internat. Pharmac. Ther.*, *113*, 273.
DE CARNERI I. (1958): *Riv. di Parassitol.*, *19*, 81.
DE CARNERI I. (1958): *Ztschr. Tropenmed. u. Parasit.*, *9*, 32.
DENNIS E. W., BERBERIAN D. A. (1954): *Antibiot. Chemother.*, *4*, 554.
DENNIS E. W., BERBERIAN D. A., HANSEN S. S. (1949): *Am. Trop. Med.*, *29*, 683.
DI PIETRO P. (1954): *Arch. It. Sc. Med. Trop. Par.*, *35*, 74.
DOBELL C. (1947): *Ann. Soc. Belge Med. Trop. Liber Jubil. Rodain*, 201.
DOBELL C., LAIDLAW P. P. (1926): *Parasitology*, *18*, 206.
DOPTER C., DESCHIENS R. (1938): *C. R. Soc. Biol.*, *129*, 626.
DURR H., KRADOLFER F., GROSS F. (1957): *Schweiz Z. allg. Path. Bakt.*, *20*, 544
ELSLAGER E. F., BENTO E. L., SHORT F. W., TENDICK F. H. (1956): *J. Am. Chem. Soc.*, *78*, 3453.
ENGLISH A., FIELD M., SZENDY S., TAGLIANI N., FITTS R. (1952): *Antibiot. Chemother.*, *2*, 678.
FANCHER O. E., HAYAO S., NICHOLS G. (1958): *J. Am. Chem. Soc.*, *80*, 1451.
FAUST E. C., LEWIS R., HEIIBRUNN I., ICKMAN M. L., EVERITT M. G. (1948): *Medicina Mexico*, *28*, 206.
FELSENFELD O., KADISON E. R., ISHIHARA S. J. (1951): *Am. J. Pub. Health*, *41*, 1078.
FELSENFELD O., VOLINI I. F., YOUNG V. M., ISHIHARA S. J. (1950): *Am. J. Trop. Med.*, *30*, 499.
FELSENFELD O., YOUNG V. M. (1945): *Trans. Am. Micr. Soc.*, *64*, 286.
FORD J. H., LEACH B. E. (1948): *J. Am. Chem. Soc.*, *70*, 1223.
FULLER F. W., FAUST E. C. (1949): *Science*, *110*, 509.
FULTON J. D., JOYNER L. P., KING H., OSBOND J. M., WRIGHT J. (1950): *Proceed. Roy. Soc. B.*, *137*, 339.
GAMBARDELLA A., CHIEFFI G. (1951): *Acta Med. Ital.*, *6*, 100.
GOODWIN L. G., HOARE C. A., SHARP T. M. (1948): *British J. Pharm. a. Chemother.*, *3*, 44.
GOULD M., HANSEN E. L. (1950): *Fed. Prooc.*, *9*, 276.
HALAWANI A. (1930): *Ann. Trop. Med. Parasit.*, *24*, 273.
HALL D. M., MAHBOOB S., TURNER E. E. (1950): *J. Am. Chem. Soc.*, *72*, 1842.
HALL D. M., MAHBOOB S., TURNER E. E. (1952): *J. Am. Chem. Soc.*, *74*, 149.
HANSEN E. L. (1949): *Thesis. University of California.*
HANSEN E. L. (1949): *Fed. Prooc.*, *8*, 299.
HANSEN E. L., BENNETT B. M. (1952): *Exp. Parasit. N. Y.*, *I*, 143.
HARGRAAVES W. H. (1945): *Lancet*, *2*, 68.
HEWITT R., WALLACE W., WHITE E. (1950): *Science*, *112*, 144.
HEWITT W. L., WOOD J. P. Jr. (1953): *New Engl. J. Med.*, *249*, 261.
HOEKENGA M. T. (1957): *Southern Med. J.*, *50*, 536.
HOWITT F. B. (1926): *Univ. of. California Publ. in Zool.*, *28*, 173.
HRENOFF A. K., NAKAMURA M. (1951): *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, *77*, 162.
ISHII N. (1948): *Jap. Med. J.*, *1*, 30.
ISTITUTO H. (1950): *J. Am. Med. Ass.*, *152*, 4.
JONES W. (1950): *Nature*, *165*, 649.
JONES W. R. (1947): *British J. Pharmacol. a. Them.*, *2*, 217.
KACHRU C. N., PATHAK B. (1957): *J. Indian Chem. Soc.*, *34*, 611.
KACHRU C. N., PATHAK B. (1957): *J. Indian Chem. Soc.*, *34*, 768.
KANTEMIR I. (1951): *Acta Med. Turcica*, *3*, 59.
KNIGHT A. A., MILLER J. (1948): *J. Labor. a. Clin. Med.*, *33*, 1632.
KNOLL B. W., HOWELL K. N. (1946): *Arch. Path.*, *42*, 594.
KOFOID A. C., WAGENER E. H. (1925): *Univ. of. California Publ. in Zool.*, *28*. 155.
KOFOID A. C., MC NEIL E., WOOD F. D. (1937): *J. Pharm. Exper. Therap.*, *59*, 424.
LAIDLAW P., DOBELL C., BISHOP A. (1928): *Parasitology*, *20*, 207.
LAMY L., CHEVRIER A. M. (1948): *Bull. Soc. Path. Exhot.*, *41*, 153.
LAMY L., MOLINARI V. (1958): *Ann. Inst. Pasteur*, *94*, 655.
LAMY L., MOLINARI V. (1958): *Bull. Soc. Path. Exhot.*, *51*, 209.

LOESCH F. (1875). *Arch. Path. Anat.*, *65*, 196.
LOGEMANN W., ALMIRANTE L., DE CARNERI I. (1958): *Il Farmaco Ed. Sci.*, *13*, 139.
LOGEMANN W., LAURIA F., TOSOLINI G., DE CARNERI I. (1958): *Il Farmaco Ed. Sci.*, *13*, 129.
LOUGHLIN E. H., MULLIN V. G. (1954): *Antibiot. Chemother.*, *4*, 570.
LYNCH J. E., BANFORTH B. J., GOECKERITZ D. (1956): *Antibiot. Chemother.*, *6*, 330.
LYNCH J. E., ENGLISH A. R., BAUCK H., DILIGIANIS H. (1954): *Antibiot. Chemother.*, *4*, 844.
LYONS R. (1915): *Am. J. Med. Sc.*, *150*, 97.
MAGAUDDA-BORZI' L., PENNISI L. (1957): *Atti Soc. Pel. Sci. Fis. Mat. e Nat.*, *3*, 455.
MAGAUDDA-BORZI' L., PENNISI L. (1958): *Riv. di Parassitol.*, *29*.
MATHIS C. (1949): *Bull. Acad. Nat. Med.*, *133*, 577.
MC CONNACHIE E. W. (1954): *Parasitology*, *44*, 132.
MC CONNACHIE E. W. (1956): *Parasitology*, *46*, 117.
MC COWEN M. C., CALLENDER M. E., LAWLIS J. F. (1951): *Science*, *113*, 202.
MC COWEN M. C., CALLENDER M. E., RENNEL TH., LAWLIS J. F. jr. (1954): *Antibiot. Chemother.*, *4/7*, 753.
MC COWEN M. C., CALLENDER M. E., LAWLIS J. W, BRANDT M. C. (1953): *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, *2*, 212.
MC HARDY G., FRYE W. W. (1954): *J. Am. Med. Ass.*, *154*, 646.
MC VAY L. V., LAIRD R. L., SPRUNT D. H. (1949): *Science*, *109*, 590.
MENEGHETTI E. (1952): *Encicl. Med. Ital.*, *111*, 1719.
MICHELETTI E., AGOSTINUCCI G. (1952): *L'Amebiasi*. Ist. Sier. Mil., Milano.
MOST H. (1949): *Bull. N. J. Acad. Med.*, *25*, 717.
MOST H., VAN ASSENDELFT F. (1951): *Am. J. Trop. Med.*, *31*, 284.
MOST H., VAN ASSENDELFT F. (1952): *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, *55*, 1114.
MUHLPFORDT H., MARTINEZ-SILVA R. (1956): *Ztschr. f. Tropenmed. u. Paras. Stuttgart.*, *7*, 211.
MUKHERJEA A. K., RAY H. N. (1956): *Bull. Calcutta Sch. Trop. Med.*, *4*, 158.
NAKAMURA M. (1951): *Kitasato Arch. Esp. Med.*, *23*, 71.
NAKAMURA M. (1956): *Nature (Lond.)*, *178*, 1119.
NAKAMURA M. (1957): *Experientia (Basel)*, *13*, 29.
NAKAMURA M. (1957): *Canadian J. Microbiol. Ottawa*, *3*, 510.
NAKAMURA M., ANDERSON H. H. (1951): *Exper. Parasit. N. Y.*, *I*, 66.
NAKAMURA M., ANDERSON H. H. (1951): *J. Parasitology*, *37*, 421.
NAKAMURA M., ANDERSON H. H. (1952): *Fed. Prooc.*, *II*, 378.
NAKAMURA M., ANDERSON H. H. (in press.): *J. Pharm. Exper. Therap.*
NAKAMURA M., HRENOFF A. K., ANDERSON H. H. (1953): *Amm. J. Trop. Med. Hyg.*, *2*, 206.
NORMAN L., BROOKE M. M. (1955): *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, *4*, 472.
OSBOND J. M. (1951): *J. Am. Chem. Soc.*. *73*, 3464.
PAUTRIZEL R., PINTAUX C., NEUZIL E. (1949): *Bull. Trav. Soc. Pharm. Bordeaux*, *87*, 82.
PESSOA S. B., AMARAL A. D. F. (1945): *Brasil Medico*, *59*, 27.
PHILLIPS B. P. (1950): *Science*, *III*, 8.
PHILLIPS B. P. (1951): *Am. J. Trop. Med.*, *31*, 561.
PRADO F. Jr. (1949): *Brasil Medico*, *63*, 43.
PYMAN F. L. (1937): *Nature*, *140*, 832.
QUEVAUVILLER A. (1950): *Arch. Int. Pharmac. Ther.*, *83*, 182.
RAO G. V. (1951): *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, *44*, 593.
RAWSON G. W., HITCHCOCK D. J. (1947): *J. Parasitology*, *33*, 19.
RAY S., MUKHERJEA A. K., RAY H. N. (1957): *Bull. Calcutta Sch. Trop. Med.*, *2*, 65.
RODHAIN J., VAN HOOF M. T. (1935): *C. R. Soc. Biol.*, *118*, 1646.
RODANICHE E. C., KIRSNER S. B. (1942): *J. Parasitology*, *28*, 441.
SAH P. P. T. (1950): *Recueil des Trav. Chim. Pays-Bas*, *69*, 1407.
SEN A. B., KULKARNI Y. D. (1956): *J. Indian Chem. Soc.*, *33*, 326.
SENECA H. (1953): *F. Intern. Congr. Trop. Med. Mal., Instanbul.*
SENECA H. (1955-1956): *Antibiotic Annual*, *697*.
SENECA H., BERGENDAHL E. (1954): *Science*, *120*, 988.
SENECA H., BERGENDAHL E. (1954): *Am. J. Med. Sci.*, *228*, 16.
SENECA H., HENDERSON E., HARVEY M. (1949): *Am. J. Trop. Med.*, *29*, 37.
SENECA H., IDES D. (1953): *Antibiot. Chemother.*, *111*, 117.
SENECA H., KANE J. H., ROCKENBACH J. (1952): *Antibiot. Chemother. N. Y.*, *2*, 357.

SHAFFER J. G., BIEGELEISEN J. Z. (1951): *Am. J. Hyg.*, *53*, 139.
SHAFFER J. G., CONNER P., ROSENTHAL G. (1957): *Am. J. Trop Med. Hyg.*, *6*. 646.
SHWARTZMAN G. (1944): *Science*, *100*, 477.
SMITH R. M., JOSLYN D. A., GRUHZOT O. M., MC LEAN J. W. Jr., PENNER M. A., ERRLICH J. (1948): *J. Bact.*, *55*, 425.
SOBIN B. A., TANNER F. W. Jr. (1954): *J. Am. Chem. Soc.*, *76*, 4053.
SOBIN B. A., ENGLISH A. R., CELMER W. D. (1955): *Antibiot. Annual 1954-55 N. Y. Med. Encycl., Inc. 827.*
SPINGARN C. L., EDELMAN M. H. (1947): *J. Parasitology*, *33*, 416.
SPINGARN C. L., EDELMAN M. H. (1951): *Am. J. Trop. Med.*, *31*, 206.
SPINGARN C. L., EDELMAN M. H. (1952): *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, *1*, 412.
STAM A. B., VAN THIEL P H. (1956): *Doc. Med. Geogr. Trop. Amsterdam*, *8*, 171.
STEWART G. T. (1949): *Nature*, *163*, 842.
ST. JOHN J H. (1933): *Am. J. Hyg.*, *18*, 414.
SURREY A. R., OLIVET A. J., WINTHROP S O., LESHER G. Y. (1956): *J. Am. Chem. Soc.*, *78*, 3834.
SYMPOSIUM ON THE LABOR. ASPECT OF AMOEBIASIS (1957): *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, *51*, 323.
TANNER F., ENGLISH A., LEES T., ROUTIEN J. (1952): *Antibiotic Chemother*, *2*. 441.
TANNER F. W. Jr., SOBIN B. A., GARDOCKI J. F. (1955): *Antibiot. Annual 1954-55, N. Y. Med. Encycl., Inc. 809.*
TAYLOR D. J., BOND H. W., SHERMAN J. F. (1955): *Antibiot. Annual 1954-55, N. Y. Med. Encycl., Inc. 745.*
THOMPSON J. G., THOMPSON D. (1916): *J. Roy. Army. Med. Corps.*, *26*, 683.
THOMPSON P. E., MC CARTHY D. A., BAYLES A., REINERTSON J. W., COOK A. R. (1956): *Antibiot. Chemother.*, *5*, 337.
THOMPSON P. E., DUNN M. C., BAYLES A., REINERTSON J. W. (1950): *Am. J. Trop. Med.*, *30*, 203.
THOMPSON P. E., REINERTSON J. W., BAYLES A., MC CARTHY D. A., ELSLAGER E. F. ((1955): *Am. J. Trop. Med.*, *4*, 224.
THOMPSON P. E., REINERTSON J. W., MC CARTHY D. A., BAYLES A., COOK A. R. (1955): *Antibiot. Chemother.*, *5*, 433.
TOBIE J. E., MOST H., REARDON L. V., BOZICEVICH J. (1951): *Am. J. Trop. Med.*, *31*, 414.
TREFOUEL J., TREFOUEL TH., PERRET M. (1951): *C. R. Acad. Sci.*, *232*, 2273.
URSO B., MASTRANDREA G. (1954): *Arch. It. Sc. Med. Trop.*, *35*, 609.
VOGEL H. (1927): *Arch. f. Schiffs. u. Tropen Hyg.*, *31*, 74.
YOO A. E. J., EMERSON G. A. (1956): *Tex. Rep. on Biol. Med.*, *14*, 464.
WATT J. Y. C., VANDEGRIFT W. B. (1960): *J. Labor. Clin. Men.*, *36*, 741.
WEDDER E. B. (1911): *Bull. Monilia Med. Boch. Narch.*
WEDDER E. B. (1912): *Far. Eastern Asoc. Trop. Med. Trans Second Riennal Congr. Leld at Hong Kong.*
WHERRY (1912): *J. Infec. Disc.*, *10*, 162.
WHIFFEN A. J. (1948): *J. Bact.*, *56*, 283.
WILMOT A. J. (1955-56): *Antibiot. Annual*, *319*.
WILMOT A. J., ARMSTRONG T. G., ELSDON-DEW R. (1951): *J. Trop. Med.*, *54*, 161,
WOOLFE G. (1957): *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, *51*, 320.

RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. XXII - N. 1 - Marzo 1961

NOTE E OSSERVAZIONI

UN CATTURATORE AUTOMATICO PER INSETTI PER USO DI LABORATORIO

GIAMBATTISTA DELL'UOMO

E' ben noto a coloro che si occupano di allevamento di zanzare quanto sia faticoso e fastidioso l'uso del catturatore a bocca per il trasporto delle adulte dalle grandi gabbie, in cui si usa farle uscire dalla spoglia ninfale, agli altri ambienti in cui si debbono trasferire per le esigenze della sperimentazione: faticoso per il prolungato sforzo cui sono sottoposti i polmoni a causa delle continue aspirazioni, e fastidioso, oltre che assai poco igienico, per l'arrivo nella bocca di parti del corpo della zanzara, come zampe ed ali, che inevitabilmente si distaccano da qualche esemplare.

Direttamente interessato all'argomento per le mie incombenze di lavoro, pensai di escogitare un qualche accorgimento che ovviasse ai su ricordati inconvenienti del catturatore a bocca e che in pari tempo rendesse più celere il lavoro. Giunsi così ad elaborare un catturatore automatico, la immediatamente comprovata funzionalità ed utilità del prototipo del quale (in legno) indusse il Dott. Mosna, Capo del Laboratorio, a farne costruire da una ditta specializzata una versione in metallo, che è appunto quella che qui descrivo. L'apparecchio è in corso di brevettazione.

Descrizione dell'apparecchio

L'intera attrezzatura consta delle seguenti parti: 1) una cassetta metallica, costituente la parte sostanziale dell'apparecchio; 2) un supporto metallico; 3) un aspiratore centrifugo.

1) La cassetta metallica è lunga cm 20, larga cm 12 ed alta cm 10; è munita di un coperchio dell'altezza di cm 2,5.

Le pareti anteriore e posteriore non presentano alcunché di particolare, mentre le due laterali sono ambedue dotate medialmente di un foro del diametro di mm 10; quello della parete di destra è attraversato da un tubo metallico, del diametro di mm 10, debordante verso l'interno per cm 5 ed all'esterno per cm 3; quello della parete di sinistra presenta verso l'interno una presa d'aspirazione con diffusore, costituita da una cipolla metallica del diametro di cm 4 dotata marginalmente di una serie di fori, mentre all'esterno si diparte da esso una prolunga metallica con portagomma della lunghezza di cm 9. Il fondo presenta infine, a cm 7 dalla parete sinistra, una sbarretta metallica, innalzantesi verticalmente per cm 1,5, che lo divide in due parti.

Il coperchio è apribile a cerniera posteriormente, mentre all'innanzi è chiudibile a pressione mediante due leve di trazione. Tutto il suo bordo inferiore è rivestito di gommapiuma; il piano è costituito da una lastra di vetro, tenuta in sito a mezzo di viti.

2) Il supporto metallico consta di un piano di cm 48 per 18, con un bordo rialzato di cm 2 lungo tre lati e sul quarto, posteriore, un dispositivo per l'appoggio:

(*) *Istituto Superiore di Sanità, Laboratori di Parassitologia, Roma.*

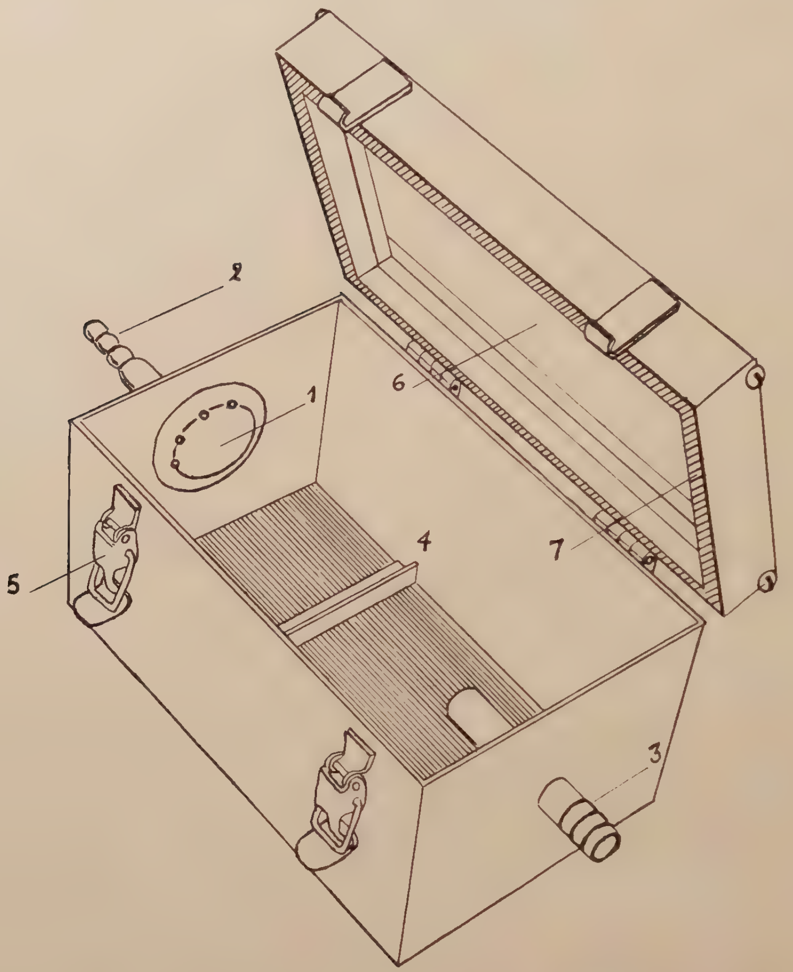

Fig. 1 - 1, diffusore d'aspirazione; 2, prolunga con portagomma per l'attacco all'aspiratore; 3, prolunga per l'attacco del tubo di plastica; 4, sbarra di fissaggio per la gabbietta di tulle; 5, leve di trazione per la chiusura a pressione; 6, piano in vetro del coperchio; 7, rivestimento in gommapiuma.

due staffe laterali, alte cm 13,5, riunite in alto da una sbarra opportunamente ripiegata a gancio, nella sua parte centrale per circa cm 40.

3) L'aspiratore centrifugo è un comune apparecchio elettrico di questo genere. Giova ricordare che nel prototipo era stato usato, con soddisfacenti risultati, un semplice aspiratore a getto fluido (acqua).

Funzionamento dell'apparecchio

Al momento dell'uso si inserisce nello scomparto destro della cassetta — e la sbarretta posta sul fondo lo manterrà in sito — una gabbietta di tulle, avvolgendo il manicotto di essa al tubo sporgente dalla parete destra; la cassetta viene quindi chiusa a mezzo delle leve di trazione, assicurandosi così, grazie anche alla guar-

nizione in gommapiuma del coperchio, una perfetta tenuta. Il tubo sporgente dalla parete esterna di destra viene collegato con un tubo di plastica, del diametro interno di cm 1, alla cui altra estremità si innesta una canna di vetro; è importante che il tubo di raccordo tra la cassetta e la canna di vetro sia di plastica e non di gomma in quanto ho visto che le zanzare riescono talora a trovare appiglio sui tubi di gomma, mentre ciò è loro praticamente impossibile con i tubi di plastica. Il portagomma della prolunga inserita nella parete di sinistra della cassetta viene infine collegato all'aspiratore centrifugo a mezzo di un tubo di gomma.

Poggiata la cassetta sul supporto metallico, che ovviamente sarà stato precedentemente applicato, grazie alla sua sbarra a gancio, al di sotto della gabbia da cui debbono essere tolte le zanzare, l'apparecchio è pronto per l'uso. Messo in azione l'aspiratore centrifugo, si crea attraverso la cassetta e nella canna di vetro una corrente aspirante che convoglia le zanzare nella gabbietta di tulle. E' opportuno precisare che, grazie all'accorgimento di aver posto un diffusore alla presa di aspirazione, questa è così uniformemente diffusa che le zanzare non vengono mai o quasi attirate verso la parete posteriore della gabbietta di tulle, ma sempre si posano spontaneamente sul soffitto della gabbietta stessa. La potenza di aspirazione dell'aspiratore è stata d'altronde resa facilmente regolabile a mezzo dell'inserzione nel tubo di collegamento tra questo e la cassetta di un tubetto di vetro a T al cui ramo libero si innesta un tubo di gomma chiuso con un morsetto a vite; aumentando o diminuendo la pressione di questo si può infatti immettere nel circuito più o meno aria.

Tutto il procedimento dell'operazione, e quindi anche la potenza di aspirazione, è agevolmente osservabile grazie alla parete di vetro del coperchio della cassetta ed alla colorazione bianca dell'interno di essa. Terminato il trasferimento delle zanzare, basta aprire la cassetta e la gabbietta di tulle è facilmente sfilabile dal suo alloggiamento senza che si abbia fuga di insetti.

Conclusione

L'apparecchio descritto risponde pienamente ai requisiti di praticità ed utilità che mi ero ripromesso di raggiungere. Esso compie infatti egregiamente il lavoro di aspirazione e consente di trasferire le zanzare — nonché naturalmente altri piccoli insetti, come mosche ecc. — da un ambiente all'altro con minima fatica e con un dispendio di tempo enormemente minore, pari a circa 1/5, di quanto non avvenga con l'aspiratore a bocca, nonché di contarle senza difficoltà. Va infine precisato che gli insetti non subiscono praticamente alcun danno nel corso del trasferimento a mezzo dell'apparecchio descritto.

RINGRAZIAMENTI — Ringrazio sentitamente il Dott. E. Mosna per i preziosi consigli e tutto l'aiuto elargitomi nel perfezionamento dell'apparecchio, ed il Prof. M. Ricci per l'aiuto datomi nella stesura della presente nota.

Summary: A device is described with which it is possible to transfer small insects (flies, mosquitos, etc.), reared in the laboratory, from one place to another five times more quickly, with a minimum of labour and without any damage to the insects.

RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. XXII - N. 1 - Marzo 1961

RECENSIONI

JIROVEC O. (con la collaborazione di Jira J., Kmety E., Kramár J., Petrou M., Rosicky B.): *Parasitologie für Arzte.* XI + 684 pp., 285 figure, in parte a colori. G. Fischer, Jena, 1960. 93,65 DM.

E' la traduzione tedesca, rinnovata ed ampliata, della prima edizione ceca (1954). A differenza di tutti gli altri libri finora disponibili sull'argomento, questo di Jirovec non è stato concepito per i tropicalisti, ma per i medici dei paesi temperati. Particolare sviluppo hanno perciò avuto i capitoli su *Trichomonas vaginalis*, *Toxoplasma gondii* e *Pneumocystis carinii*, al cui studio sia biologico che clinico la scuola cecoslovacca ha portato un contributo fondamentale, e sulle leptospire, gli ossiuri e gli artropodi ematofagi.

Nella prima parte vengono esposte per la prima volta in un testo accessibile ai lettori occidentali le vedute delle scuole slave di parassitologia ecologica (teoria dei « foci naturali d'infezione » di Pawlowsky) e le applicazioni pratiche, in Asia ad es. nella lotta contro la leishmaniosi e la peste, nell'Europa Centrale nello studio della epidemiologia della toxoplasmosi e delle rickettsiosi. Seguono una descrizione dei più importanti antiprotozoari, antielmintici e insetticidi; poi 46 pagine di tecnica parassitologica, quindi la protozoologia — cui sono annessi capitoli sulle spirochete, rickettsie e bartonelle — l'elmintologia e gli artropodi parassiti. Tra le parassitosi esotiche particolare rilievo iconografico è stato dato a certe elmintiasi cinesi e coreane (da *Paragonismus westermani*, *Clonorchis sinensis*, ecc.) con cui evidentemente gli Autori hanno avuto occasione di famigliarizzarsi negli ultimi anni. Il testo continua con una descrizione dell'attrezzatura e del reagentario di un laboratorio di parassitologia clinica e si chiude con un indice bibliografico dei più significativi lavori cecoslovacchi di parassitologia e con l'indice analitico.

Il volume è illustrato da schemi e disegni e da numerose, splendide fotografie in nero e a colori. E' un testo di valore generale, ma di particolare importanza per il medico interessato ai parassiti ed alle parassitosi d'Europa.

I. DE CARNERI

PAUL J.: *Cell and tissue culture*, II ed., XI+312 pp., Livingstone, Londra, 1960, 32/6 sc.

Il fatto che ad un anno di distanza dalla I edizione si sia trovato necessario emetterne una seconda, poiché la precedente si era completamente esaurita, è la dimostrazione migliore del favore che ha incontrato questo libro nel campo sempre più grande e più numeroso di coloro che si occupano di colture di tessuti. Questa nuova edizione, come scrive l'Autore, ha anche il pregio di essere ampliata in alcuni capitoli, di contenerne uno nuovo sulle tecniche di trapianto di tessuti e di essere ancora più aggiornata.

E' un libro quello del Paul senza grandi pretese, è un manuale pratico che raccoglie in sé però tutte le nozioni fondamentali, assolutamente utili per chi voglia occuparsi di questo argomento. Pur trattando nei diversi capitoli tutti gli elementi legati a questa tecnica, che tanto sviluppo ha preso in questi ultimi anni sia nella scienza pura sia in quella applicata, il Paul non si dilunga eccessivamente e non si perde in troppe citazioni o in divulgazioni che finirebbero con l'appesantire il suo volume: egli riferisce soltanto le cose essenziali, basilari ed è questo uno dei pregi maggiori, se pure non il solo, di questo libro.

Il volume è diviso in quattro sezioni, precedute da una breve introduzione storica sullo sviluppo della tecnica delle colture di tessuti.

La prima parte riguarda i principi su cui si basa la coltura delle cellule e quindi tratta della cellula e del suo mezzo ambiente naturale ed in seguito dei terreni artificiali adatti per la sua crescita.

La seconda parte è dedicata alla preparazione del materiale necessario per lavorare. E' specialmente interessante ed utile, perché contiene gli elementi assolutamente indispensabili tecnicamente, perché l'applicaizone dei metodi possa avere dei buoni risultati: la pulizia della vetreria, ad esempio, e l'uso degli antibiotici.

In una terza sezione sono considerate innanzi tutto le varie fonti da cui si può partire per ottenere le cellule da coltivare e poi tutte le diverse tecniche di coltura, dagli espianti alle cellule tripsinizzate, dalle linee cellulari continue alla coltura dei tessuti *in vivo* ed ai trapianti.

In un'ultima parte sono condensati i metodi per lo studio morfologico delle cellule coltivate, i metodi per le ricerche metaboliche quantitative ed infine l'applicazione delle colture di tessuto alla virologia.

Ogni capitolo è corredato da sufficienti dati bibliografici, illustrato da numerose figure. Molto utili sono i nomi e gli indirizzi delle principali case fornitrici dei materiali più necessari.

I. ARCHETTI

The physiology of Crustacea. Vol. I: *Metabolism and growth*. a cura di WATERMAN T. H., pagg. XVIII+670, Academic Press, New York & London, 1960. $ 22.00.

E' il primo di due volumi sulla fisiologia dei Crostacei; esso tratta esclusivamente del metabolismo e della crescita; mentre il secondo volume tratterà degli organi di senso, dell'integrazione e del comportamento.

Era logico che a seguito dei vari testi di fisiologia degli Insetti, anche alla fisiologia dei Crostacei fosse dedicato un trattato a sé. E' vero che sia dal punto di vista economico come da quello sanitario gli Insetti hanno una importanza pratica molto maggiore, e sono di conseguenza più studiati dei Crostacei; non bisogna tuttavia dimenticare che alcuni studi fondamentali di fisiologia, come per esempio le ricerche sul sistema neuromuscolare, hanno avuto grande impulso in primo luogo, ed in maniera più completa, date le caratteristiche particolari del materiale biologico, proprio nei Crostacei.

Il redattore Prof. T. H. Waterman, ha raccolto in questo volume le monografie di vari argomenti preparate dagli studiosi più competenti in questo campo, i quali, piuttosto che seguire uno schema limitato a questa classe zoologica, hanno voluto estendere la trattazione anche ad altre classi, conferendo così al volume una impronta di fisiologia comparata che non può che aggiungere interesse all'opera. Essa è stata aggiornata con le pubblicazioni del 1958 e con le più importanti ricerche della prima metà dei 1959. I capitoli dell'opera sono i seguenti:

1) Biologia generale dei Crostacei (T. H. Waterman ed F. A. Chase); 2) Respirazione (H. P. Wolvekamp e T. H. Waterman); 3) Biochimica dei pigmenti (T. W. Goodwin); 4) Chimica del sangue (M. Florkin); 5) Circolazione e funzione cardiace (D. M. Maynard); 6) Assunzione del cibo e nutrizione (S. M. Marchall e A. P. Orr); 7) Vitamine (L. R. Fisher); 8) Digestione e metabolismo (H. J. Vonk); 9) Regolazione osmotica e ionica (J. D. Robertson); 10) Escrezione (G. Parry); 11) Adattamento terrestre (E. B. Edney); 12) Ecologia e metabolismo del sesso (H. Charniaux-Cotton); 14) Tegumento ed esoscheletro (R. Donnel); 15) Le mute ed il loro controllo (L. M. Passano); 16) Accrescimento relativo (G. Teissier); 17) Autonomia e rigenerazione (D. E. Bliss).

Siamo lieti di presentare questo primo volume ai fisiologi ed agli zoologi italiani che lo troveranno di valido aiuto sia nell'insegnamento che nella ricerca.

Ogni capitolo è corredato di chiari disegni, o fotografie, di numerose tabelle e di una propria bibliografia.

S. BETTINI

Direttore responsabile: Dott. E. MOSNA

Tipografico Editrice dell'Orso — Roma, Via dell'Orso, 28